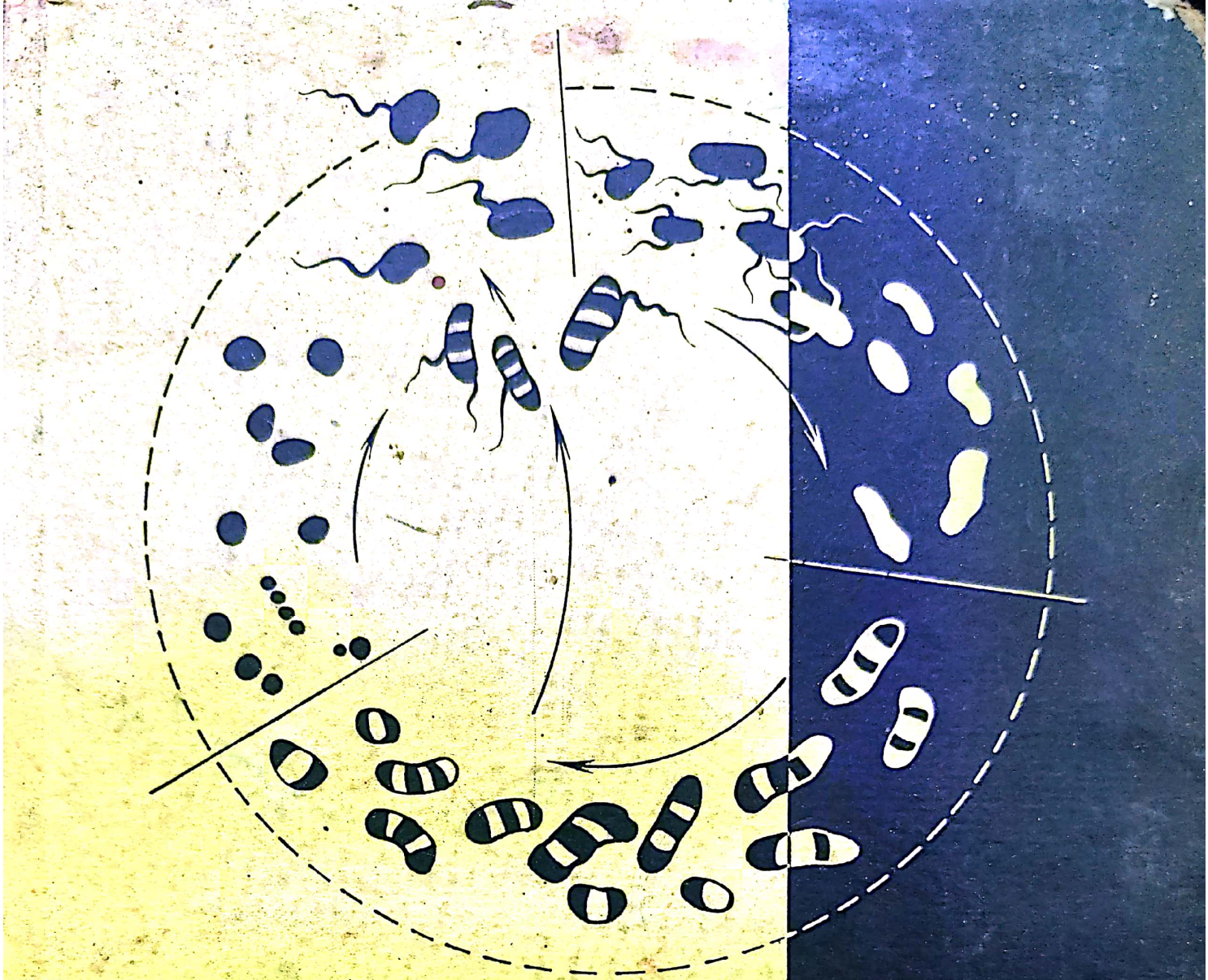


FLORICA SOARE

MICROBIOLOGIA SOLULUI

Scanned with OKEN Scanner

MINISTERUL ÎNVĂŢĂMÎNTULUI
UNIVERSITATEA "Al.I.CUZA"-IAŞI
Facultatea de biologie-geografie

ŞEF DE LUCRĂRI FLORICA SOARE

MICROBIOLOGIA SOLULUI

Editura didactică şi pedagogică
Bucureşti - 1966

Scanned with OKEN Scanner

INTRODUCERE

Microbiologia solului s-a separat ca domeniu de studii de sine stătător, după ce numeroase cercetări au scos în evidenţă rolul important pe care-l au microorganismele pentru sol şi plante. Primele cercetări de microbiologia solului s-au desfăşurat, ca şi cele de microbiologie medicală, la Institutul Pasteur din Paris, fiind iniţiate şi conduse de S.N.V i n o g r a d s k i , ale cărui descoperiri fundamentale în microbiologia solului sînt îndeobşte cunoscute. Cercetările ulterioare executate la Institutul Pasteur reprezintă în fond o continuare, o dezvoltare şi o modernizare a celor iniţiate de S.N.Vinogradski. Dar studiul microbiologiei solului nu a rămas limitat în Institutul Pasteur, ci s-a extins imediat în foarte multe ţări din lume, ca U.R.S.S. (O m e l i a n s k i), S.U.A. (W a k s m a n), Anglia, ţările nordice etc.

In ţara noastră probleme de microbiologia solului se studiază şi se urmăresc în cadrul Institutului central de cercetări agricole, Institutului de cercetări forestiere, institutelor de învăţămînt superior etc.

Studii profunde se fac de asemenea în laboratoarele centrului experimental de îngrăşăminte bacteriene Băneasa. Aici s-a pus la punct tehnologia preparării a numeroase îngrăşăminte bacteriene.

Microbiologia solului este o disciplină relativ recent constituită, care s-a dezvoltat şi se dezvoltă pe baza cunoştinţelor dobîndite de o serie de discipline fundamentale, ca: botanica, microbiologia generală, fiziologia plantelor, biochimia, pedologia, ştiinţele agricole, chimia fizică etc. Astfel constituită, microbiologia solului este o disciplină sintetică, care studiază multilateral şi profund un domeniu limitat de desfăşurare a vieţii pe pămînt, şi anume solul. Pentru aceasta, obiectul de studiu (solul) este cercetat prin metode împrumutate de la alte discipline ştiinţifice, dar adaptate la specificul său, precum şi prin metode proprii. Pe această bază, microbiologia solului îşi formulează o problematică proprie, o metodologie proprie, prin care rezolvă

numeroase probleme la care disciplinele analitice se referă în linii cu totul generale şi din unghiuri de vedere diferite. Microbiologia solului uneşte aceste cunoştinţe disparate, rezultînd un ansamblu unitar de cunoştinţe profunde asupra biocenozelor solurilor şi mecanismelor lor de autoreglare şi integrare biologică. Variatele specii de microorganisme şi microorganisme cu caracteristici biologice foarte diferite, realizează în sol un sistem ecologic echilibrat, prin adaptarea reciprocă a speciilor componente şi a ansamblului viu la condiţiile abiotice ale mediului. Astfel, biocenozele solurilor au o relativă stabilitate (determinată de condiţiile abiotice), dar şi un dinamism caracteristic, dat de variaţia continuă a aportului de resturi organice provenite din vegetaţia regiunii. Speciile micropopulaţiei solului alcătuiesc o biocenoză, în care stabilitatea se observă doar ca un moment trecător. Multiplele transformări de substanţă duc în cele din urmă la realizarea unora sau a mai multor cicluri trofice, care reprezintă elementul de legătură dintre speciile care populează solul, precum şi dintre ansamblul lor şi mediul abiotic. In diferitele momente ale vieţii solului, pot exista specii dominante care imprimă caracteristici generale circuitului materiei şi energiei în ecosistem, ceea ce reprezintă un factor important de autoreglare. Biocenoza solului, ca un sistem ecologic integrat, posedă o evoluţie rapidă şi ciclică a tuturor elementelor componente şi proceselor din care este constituită. In acelaşi timp, biocenoza solului reprezintă o parte componentă extrem de importantă a biosferei, deoarece prin executarea unei bune părţi a circuitului biologic al elementelor devine un element dominant în realizarea ciclurilor trofice la nivelul biosferei.

Obiectul microbiologiei solului

Microbiologia solului se ocupă cu studiul microorganismelor din sol, a activităţii lor biochimice şi fiziologice. Trebuie precizat faptul că nu toată micropopulaţia din sol face obiectul microbiologiei solului. Aşa, de exemplu, în sol există spori ai unor microbi patogeni, ca *Bacillus anthracis* sau *Plectridium tetani*, microorganisme patogene, care prin metabolismul lor nu influenţează cu nimic biologia solului. Astfel de microorganisme, cu toate că fac parte din microflora generală a solului, nu sînt studiate de microbiologia solului, ci de către microbiologia medicală. Se consideră că numai microorganismele care îşi petrec în sol faza

vegetativă de dezvoltare şi în condiţii favorabile execută procese care influenţează particularităţile fizico-chimice, biologice şi agricole ale solului fac parte integrantă din sistemul biologic al solului şi deci sînt studiate de microbiologia solului. In sol există numeroase asemenea microorganisme care aparţin la grupe sistematice foarte diferite: bacterii, actinomicete, fungi, alge, protozoare şi viruşi. Starea solului la un moment dat depinde de interrelaţiile biologice şi fizico-chimice care se stabilesc între organismele aparţinînd acestor grupe, precum şi între microorganisme pe de o parte, şi componentele organice şi minerale ale solului, pe de altă parte. Microbiologia solului urmăreşte studierea profundă a proceselor microbiologice care se desfăşoară în sol, în scopul dirijării lor. In ansamblu, microorganismelor din sol le sînt specifice două categorii de procese biochimice cu consecinţe multilaterale de ordin fizico-chimic, biologic şi agricol: în primul rînd, procese de degradare (fermentaţii, amonificare etc.), prin care se eliberează din materia organică substanţe minerale accesibile plantelor, şi în al doilea rînd, procese de sinteză (fixarea azotului molecular, humificarea) care creează în sol o rezervă de substanţe nutritive, mai cu seamă sub formă organică, ceea ce influenţează simţitor starea fizico-chimică şi fertilitatea solului. Cunoaşterea profundă a acestor procese şi dirijarea lor raţională pot contribui la îmbunătăţirea condiţiilor din sol şi deci la ridicarea producţiei agricole.

Scopul şi sarcinile microbiologiei solului

Studiul participării microorganismelor la cele mai complexe procese pedologice se axează în principal pe trei direcţii.

- In primul rînd, cunoaşterea cît mai completă a stării biologice a solului pe toată grosimea lui, prin studiul comparativ al frecvenţei şi activităţii microflorei generale şi grupelor fiziologice de microorganisme cu funcţii bine determinate (fixarea de azot molecular, nitrificarea, fermentarea celulozei etc.).

- In al doilea rînd, studiul echilibrului dinamic care se stabileşte între grupele fiziologice de microorganisme, precum şi oscilaţiile pe care le suferă acest echilibru în procesul natural de formare a solului şi în cursul transformării acestuia sub influenţa diferiţilor factori legaţi de cultivare (prelucrarea solului, încorporarea de îngrăşăminte minerale sau organice etc.).

- In al treilea rînd, prin cunoaşterea biologiei solului sub dublul aspect, momentan şi evolutiv, va fi posibilă compararea diferitelor orizonturi ale unui sol, a diferitelor soluri, constatarea unui eventual dezechilibru, stabilirea raporturilor posibile între microfloră şi fertilitate, studiul filogeniei solurilor.

Studiul microflorei solurilor trebuie să se bazeze mai ales pe cercetarea activităţii microflorei în ansamblu şi nu atît pe studiul speciilor de microorganisme izolate în culturi pure, care, după părerea unor cercetători, reprezintă artefacte fiziologice. In acest sens, S.N.Vinogradski arată că, "metoda de analiză a activităţii reale a microorganismelor în natură trebuie să se bazeze nu pe comportarea speciilor izolate în afara mediului natural, ci pe reacţiile întregii comunităţi microbiene în sînul acestui mediu".

Sarcina principală a microbiologiei solului constă în elucidarea laturii biologice a unor procese din sol care ar putea fi studiate şi pe cale chimică (de exemplu, dinamica compuşilor accesibili de azot). Cunoaşterea însă a mecanismelor biologice care determină această dinamică permite atît constatarea cît şi dirijarea proceselor. Geneza şi proprietăţile solului, dinamica elementelor minerale accesibile plantelor sînt determinate de fenomene biologice. Din această cauză, microbiologia solului ocupă un loc important între ştiinţele care studiază solul, avînd sarcina de a clarifica componenţii sistemului biologic al solului şi rolul lor în evoluţia acestuia. Microbiologia solului ca disciplină de sine stătătoare abordează dintr-un punct de vedere propriu şi prin metode proprii toate fenomenele telurice, de unde rezultă o concepţie de ansamblu proprie care influenţează toate ştiinţele despre sol.

Importanţa practică a microbiologiei solului

Fertilitatea solului fiind rezultatul echilibrului între procesele biologice executate de către microorganisme, domeniul care studiază aceste procese cu scopul de a le dirija capătă o importanţă agricolă esenţială. In lipsa microorganismelor, substanţele organice din sol sub formă de resturi ale organismelor nu ar putea condiţiona cu nimic acele particularităţi ale solului, care în ultima instanţă îi determină fertilitatea. Substanţele nutritive minerale accesibile plantelor provin în cea mai mare parte din substanţa organică a solului (humusul, resturile organice), prin

mineralizare de către microorganisme, precum şi din substratul mineral prin alterare. Cunoscînd esenţa, importanţa şi condiţiile în care se desfăşoară anumite procese microbiologice din sol, microbiologia poate să dea indicaţii practice care să ducă la modificarea temporară sau definitivă a echilibrului dintre procese în sens favorabil. Microorganismele din sol eliberează anual în urma descompunerii resturilor organice circa 15 tone de CO_2 pe hectar, din care plantele pot sintetiza 1o tone materie vegetală uscată, sau pînă la 5o tone masă verde. Deci, activitatea microbiană a solului este suficientă pentru asigurarea în întregime a CO_2 necesar fotosintezei.

Tot atît de important, dar mai complex, este rolul microorganismelor în circuitul azotului. Cantitatea totală de azot existentă în solurile fertile (cernoziomuri) este de 1oo-2oo ori mai mare decît necesarul pentru o recoltă agricolă anuală, dar sub formă minerală, accesibilă, în sol se găseşte numai a suta parte din acest azot. Această cantitate de azot se epuizează repede şi în numeroase cazuri devine insuficientă, manifestîndu-se foamea de azot a plantelor cultivate. De aceea, pentru agricultură, pe lîngă administrarea de îngrăşăminte azotoase, prezintă importanţă şi stimularea activităţii microorganismelor care duc la acumularea azotului şi la mobilizarea lui din rezerva solului. Aşa, de exemplu, o importanţă mare în circuitul azotului o prezintă microorganismele fixatoare de azot molecular, simbiotice şi libere. Se ştie că anumite leguminoase nu se pot dezvolta pe unele soluri unde sînt introduse pentru prima dată, decît dacă însămînţarea lor este însoţită de infectarea solului cu rasele caracteristice de bacterii simbiotice fixatoare de azot. Cercetările microbiologice au dus la elaborarea de procedee de obţinere a tulpinilor infectante de fixatori de azot molecular, precum şi a procedeelor de administrare şi stimulare a activităţii lor. In terenurile cultivate cu leguminoase, pe rădăcinile cărora se stabilesc bacterii fixatoare de azot, cantitatea de azot fixat poate să crească anual cu 5o pînă la 4oo kg la hectar. Tot atît de importantă este activitatea fixatorilor de azot molecular nesimbiotici, care pot fixa anual la hectar circa 2o kg de azot, independent de prezenţa leguminoaselor.

Microorganismele stimulează, de asemenea, mobilizarea azotului din rezervele solului. Această stimulare se poate realiza, de exemplu, prin introducerea în sol a unor materiale vegetale bogate în carbon organic. In acest caz, azotul eliberat de microorganisme prin descompunerea humusului depăşeşte necesităţile constituirii corpului microorganismelor active, eliberîndu-se astfel şi azot asimilabil.

Pe lîngă procesele în sine, microbiologia solului studiază şi condiţiile de mediu de care depind, adică, umiditatea, reacţia solului, compoziţia minerală şi conţinutul de microelemente, ceea ce contribuie la ridicarea fertilităţii şi implicit a producţiei agricole.

O altă preocupare a microbiologiei solului este cunoaşterea transformărilor uneori foarte complexe, pe care le suferă îngrăşămintele minerale administrate în sol. Astfel, administrarea îngrăşămintelor azotate este însoţită de procesul de nitrificare sau de denitrificare, în urma cărora se modifică accesibilitatea pentru plante sau se ajunge la pierderea lor prin levigare sau prin eliberare de azot molecular. Dirijarea ştiinţifică a acestor procese ajută la utilizarea cît mai judicioasă a îngrăşămintelor azotate, la sporirea rentabilităţii lor.

Din cele expuse reies multilateralitatea şi importanţa practică a problemelor abordate de microbiologia solului, ceea ce subliniază necesitatea studierii profunde a acestei discipline ştiinţifice.

Probleme de microbiologia solului au făcut obiectul unor importante dezbateri în comisia a III-a a celui de-al VII-lea Congres Internaţional de Ştiinţa solului, desfăşurat în România, la începutul lunii septembrie 1964. In acest cadru s-au prezentat numeroase comunicări ştiinţifice de înaltă valoare, privind interrelaţiile biologice din sol, metode de studiere a diferitelor microorganisme şi procese microbiene din sol, posibilităţile dirijării biologiei solului, efectele îngrăşămintelor şi erbicidelor asupra populaţiei microbiene a solului. Ideile exprimate în aceste comunicări se încadrează în problematica majoră a agriculturii moderne, şi anume, intervenţia activă în desfăşurarea proceselor pedologice, cu scopul final de mărire a fertilităţii solurilor. In lucrările acestei comisii, contribuţia cercetătorilor români a fost importantă. Condiţiile variate din ţara noastră în ceea ce priveşte solurile, relieful, asociaţiile vegetale şi condiţiile climatice pun complexe probleme teoretice şi practice de biologia solului ce vor trebui lămurite şi aprofundate în viitor. Rezolvarea problemelor puse în faţa agriculturii româneşti de către Congresul al IX-lea al P.C.R. impun şi intensificarea cercetărilor microbiologice a solurilor din România, în vederea îmbunătăţirii calităţilor agricole şi fertilităţii lor. Astfel de cercetări sînt deosebit de necesare în special în solurile desecate şi date agriculturii în Balta şi Delta Dunării. In aceste soluri, fazele finale de pedogeneză trebuie accelerate pentru a se dezvolta în ele acele elemente ale fertilităţii naturale, pe baza cărora administrarea de îngrăşăminte devine mult

Scanned with OKEN Scanner

mai eficace. In acest sens sînt necesare cercetări ample şi sistematice pentru executarea cărora conducerea de partid şi de stat acordă din plin sprijinul material pentru înzestrarea de laboratoare specializate.

Metodele microbiologiei solului

Ele sînt în primul rînd ecologice. In studiul activităţii microbiene a solului trebuie să se menţină pe cît posibil interrelaţiile sinergice sau antagonice dintre microorganismele existente în sol. Prin aceasta, metodele microbiologiei solului diferă de metodele microbiologiei generale, în care diferitele specii şi rase de microorganisme sînt izolate în culturi pure şi apoi studiate caracteristicile biologice ale tulpinii izolate. Astfel de metode aplicate la microbiologia solului nu duc la nici un fel de concluzii, deoarece interrelaţiile complexe din sol modifică simţitor particularităţile speciei studiate. Mai mult, microorganismele din sol formează complexe inseparabile cu particulele solului, "microorganisme-agregate organominerale", din care nu se pot obţine culturi pure. Aceste situaţii creează dificultăţi atît în cazul izolării tulpinilor cît şi în cazul numărării microorganismelor.

Microbiologia solului trebuie să folosească metode proprii care să permită studiul proceselor şi microorganismelor fără a le detaşa din sistemul biologic al solului. Asemenea metode sînt extrem de dificile şi pînă în prezent nu sînt deplin elaborate. De aceea în momentul de faţă, microbiologia solului foloseşte şi metodele microbiologiei generale, pentru a studia agenţii care provoacă diferitele procese cunoscute. Totodată s-au elaborat metode pentru studierea globală a diferitelor procese ce se petrec în sol, de exemplu, consumul de oxigen al solului, eliberarea de CO_2 cît şi activitatea enzimatică totală a microorganismelor din sol.

Scurtă privire istorică asupra microbiologiei solului

Microorganismele au început să fie cercetate după descoperirea lor la sfîrşitul secolului al XVII-lea, de către A. van L e u w e n h o e k. Pînă la jumătatea secolului al XVIII-lea însă, cercetătorii au continuat să studieze solul pe bază de experienţe empirice, pornind de la ideea preconcepută a unui "principiu de vegetaţie", nebănuind existenţa şi im-

portanţa microorganismelor din sol. Intre anii 1750 şi 1860 urmează o perioadă caracterizată prin introducerea de către Th. de Saussure a metodei experimentale ştiinţifice în studiul solului, bazată în special pe analize chimice cantitative. Opiniile cercetătorilor în această perioadă sînt însă contradictorii. Astfel, J.B. Boussingault, J. Berzelius, A van Thaer contestă unele afirmaţii ale lui Th. de Saussure, deşi nu aplică metodele cantitative preconizate de acesta şi nici nu introduc metoda experimentală de cîmp. Aceste metode au fost reluate de J.B. Lawes şi J.H. Gilbet în anul 1843, la Staţiunea de cercetări agricole din Rothamsted. In această perioadă, solul este tratat din punctul de vedere al fiziologiei vegetale, ca suport şi sursă de nutriţie minerală. După anul 1865, şcoala franceză evidenţiază importanţa azotaţilor în fertilitatea solurilor şi nutriţia plantelor (contrar teoriei amoniacale a lui Liebig). Ideile lui Pasteur asupra nitrificării ca proces de natură bacteriană au fost confirmate în jurul anului 1890 de către Th. Shloessing, A. Müntz şi R. Waringtone. Aproape concomitent, S.N. Vinogradski (1890) izolează bacteriile nitrificatoare, iar în anul 1888 M.W. Beijerinck izolează Bacillus radicicola (Rhizobium sp.). Din acest moment se recunoaşte importanţa bacteriilor pentru fertilitatea solului, subliniindu-se rolul lor în toate transformările materiei organice din sol şi importanţa lor pentru creştere şi dezvoltarea plantelor. In anul 1880, cercetările lui F.M. Kamenski atrag atenţia asupra simbiozei plantelor superioare cu ciupercile, sub formă de micoriză. Aceste cercetări au dezvoltat interesul pentru studiul ciupercilor din sol cît şi pentru scoaterea în evidenţă a interrelaţiilor între acestea şi plantele superioare. In această privinţă trebuie remarcate şi studiile lui P.A. Kostîcev, dintre anii 1882 şi 1885, referitoare la diverse alte ciuperci din sol. Lucrările experimentale ale lui Kostîcev prezintă o mare importanţă întrucît se referă la microbiologia formării humusului şi leagă procesele de regenerare a proteinelor din sol de activitatea vitală a microorganismelor, evidenţiind necesitatea proceselor microbiologice din sol pentru dezvoltarea producţiei agricole. Un rol important revine fiziologului D.I. Ivanovski, care în lucrarea Din activitatea microorganismelor în sol sistematizează materialul microbiologic acumulat, subliniind rolul microorganismelor în legătură cu fertilitatea solurilor. Ivanovski a adus un aport preţios şi în rezolvarea unor probleme speciale de microbiologie, ca: importanţa proceselor micro -

biologice de absorbţie a substanţelor nutritive din sol, necesitatea căutării agentului specific al fermentării metanice a celulozei etc. De asemenea, sînt de menţionat cercetările lui L. P o p o v din anul 1873, referitoare la transformarea celulozei, prin care s-a stabilit natura microbiologică a fermentaţiei acesteia. Agenţii de fermentare a celulozei au fost studiaţi în anul 1899 în lucrările clasice ale lui V.L. O m e l i a n s k i. Acesta a mai studiat detaliat bacteriile care descompun substanţele pectice şi sărurile diferiţilor acizi organici, bacteriile nitrificatoare, fixatoare de azot etc. Ulterior, cercetările lui V.N. S a p o ş n i k o v au dus la explicarea unor procese, ca fermentarea butirică, acetonică, lactică etc. Lucrări importante privitoare la studiul azotului au fost executate de P.S. K o s s o v i c i în anul 1890, care a lămurit problema activităţii bacteriilor simbiotice fixatoare de azot molecular, arătînd că aceasta se desfăşoară în nodozităţile de pe rădăcinile plantelor leguminoase.

Un rol foarte important în dezvoltarea microbiologiei solului l-au avut lucrările lui S.N. Vinogradski, asupra sulfobacteriilor, ferobacteriilor, precum şi asupra bacteriilor nitrificante. Aceste lămuriri aduc contribuţii referitoare la existenţa autonomă a unor grupe de microorganisme, la asimilarea chimiosintetică a acidului carbonic, care se realizează pe seama energiei eliberate prin oxidarea substanţelor anorganice simple. Vinogradski a studiat şi problema asimilării azotului de către bacteriile libere din sol izolînd din sol bacteria Clostridium pasteurianum şi stabilind modul cum acest microorganism fixează azotul atmosferic. Ulterior, lucrările cercetătorilor S.P. Kostîcev, V.P. I z r a i l s k i, N.A. K r a s i l n i k o v, M.V. F e d o r o v etc. au clarificat rolul altor bacterii fixatoare de azot, raporturile lor reciproce cu plantele şi au elaborat ipoteze asupra mecanismului fixării azotului atmosferic.

Pe lîngă problemele menţionate, au mai fost studiate şi procesele de descompunere a proteinelor din sol cu formare şi acumulare de amoniac. In acest domeniu sînt de menţionat cercetările lui V.S. B u t k i e v i c i care explică procesul de amonificare din sol. Principiile stabilite de el cu privire la acumularea amoniacului în culturile de mucegaiuri s-au dovedit a fi valabile şi pentru caracterizarea proceselor de transformare a substanţelor proteice şi în culturile altor microorganisme. Astfel, în al IV-lea deceniu al secolului al XX-lea, se poate considera că erau clarificate principalele etape ale transformărilor substanţelor din sol.

O nouă orientare în domeniul cercetărilor de microbiologia solului se axează pe experimentări care urmăresc caracterizarea cenozelor microbiene tipice pentru diferitele soluri.

O caracteristică a actualei ştiinţe a solului este revenirea la experienţe pe sol în legătură cu productivitatea lui. Astfel de experienţe interpretate statistic în legătură cu variaţia mai multor factori externi aduc un aport remarcabil la cunoaşterea posibilităţilor practice de valorificare a solurilor.

La noi în ţară, preocupările pentru microbiologia solului au fost în trecut relativ reduse, rezumîndu-se la lucrări executate la I.C.C.A. şi Comitetul geologic. In prezent, preocupări de microbiologia solului au intrat în profilul ştiinţific a numeroase instituţii din toată ţara. O instituţie specializată în cercetări de microbiologie agricolă este Staţiunea experimentală de preparate microbiologice din Bucureşti. Această instituţie are şi caracter productiv, furnizînd preparate microbiene pentru fertilizarea solului, ca: nitragin, azotobacterin, fosforobacterin şi alte preparate microbiene, cum sînt acidofilinul (culturi de bacterii acidolactice), entomobacterinul (culturi pentru combaterea microbiologică a insectelor), culturi de bacterii pectinolitice pentru topitul plantelor textile etc.

Caracteristic pentru dezvoltarea microbiologiei solului la noi în ţară este colaborarea strînsă între diversele instituţii, ca: Staţiunea experimentală de preparate microbiologice, facultăţile de biologie, institutele agronomice, Comisia de stat pentru încercarea şi omologarea soiurilor, Institutul de cercetări horti-viticole, Laboratorul central de carantină fitosanitară, diferite centre şcolare agricole etc.

Principalele probleme de studiu sînt legate de administrarea, eficacitatea şi mecanismul de acţiune a preparatelor microbiene pentru fertilizarea solurilor în cazul diferitelor plante de cultură şi condiţii de sol şi climă. De asemenea se începe cercetarea amănunţită a diferitelor grupe de microorganisme pe diferite tipuri de sol din Republica Socialistă România, precum şi compoziţia şi acţiunea microflorei solului şi rizosferei asupra plantelor.

Prin diversitatea problemelor abordate, prin sintetizarea datelor obţinute, microbiologia solului din ţara noastră va aduce un important aport la dezvoltarea practicii agricole şi a ştiinţei mondiale.

Scanned with OKEN Scanner

Partea întîi

BIOLOGIA MICROORGANISMELOR DIN SOL

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul I

SOLUL CA MEDIU DE EXISTENŢĂ PENTRU MICROORGANISME

Solul este un corp natural de sine stătător care se formează sub acţiunea biosferei asupra produselor de dezagregare şi alterare a rocilor. Principala proprietate a solului o constituie fertilitatea, adică capacitatea de a aproviziona permanent şi concomitent învelişul vegetal cu apă şi substanţe nutritive. Procesul producţiei agricole este nemijlocit legat de sol. Sub acest aspect solul este, după definiţia dată de Lenin, principalul mijloc de producţie în agricultură.

ALCĂTUIREA GENERALĂ A SOLULUI

In alcătuirea solului intră trei părţi: partea solidă (minerală şi organică), partea lichidă sau soluţia solului şi partea gazoasă sau aerul din sol.

Partea minerală a solului deţine ponderea cea mai mare (circa 90-97% în greutate). Ea provine din rocile pe care s-a format solul, prin transformarea acestora sub influenţa proceselor de dezagregare şi alterare. Dezagregarea este fenomenul fizic de simplă mărunţire a rocilor sub influenţa variaţiilor termice, a apei, vîntului şi a organismelor. In urma proceselor de dezagregare rezultă roci afînate, alcătuite din fragmente şi particule de diferite dimensiuni. Acest complex de dezagregare nu reprezintă solul, ci numai o fază premergătoare în formarea acestuia. Totuşi, rocile mărunţite posedă o însuşire nouă faţă de roca iniţială, dură, masivă, şi anume sînt afînate, ceea ce le face permeabile pentru aer şi apă. Alterarea este procesul complex de modificare chimică a mineralelor şi rocilor, care se manifestă printr-o serie de procese simple de hidratare, dizolvare, hidroliză, carbonatare şi oxido-reducere. Rezultatul alterării

constă în faptul că o parte din elementele minerale de nutriţie a plantelor trec în forme asimilabile simple, îndeosebi săruri minerale, în acelaşi timp însă iau naştere şi compuşi minerali complecşi de natura celor care intră în alcătuirea argilelor (mineralele argiloase). Partea minerală a solului rezultată în urma proceselor de dezagregare şi alterare şi în timpul solificării propriu-zise este reprezentată în principal prin săruri (cloruri, sulfaţi, carbonaţi, azotaţi, fosfaţi etc.), oxizi şi hidroxizi (de fier, mangan, aluminiu, siliciu etc.), minerale argiloase care formează argila din sol (principalul coloid mineral al solului), praf (particule cu diametrul între o,o2 şi o,oo2 mm) şi nisip (particule cu diametrul între 2 şi o,o2 mm). La unele soluri (celor de mai sus-amintite) se pot adăuga şi fragmente cu diametrul peste 2 mm (pietriş, pietre, bolovani).

Partea organică a solului deţine un procent mai mic decît cea minerală (circa 5-lo% în greutate), dar are o importanţă esenţială în formarea, evoluţia şi proprietăţile solului. Partea organică a solului este reprezentată prin resturile vegetale şi animale netransformate sau transformate sub acţiunea microorganismelor. Principalul constituent al părţii organice din sol îl formează humusul, materie organică coloid dispersă, de culoare brună sau brună-negricioasă. Humusul este alcătuit din compuşi de resintetizare biochimică a produselor finale de descompunere a materiei organice, acizii humici, la care se pot adăuga produse intermediare de descompunere a materiei organice. Humusul, component specific al solului, format sub acţiunea microorganismelor asupra resturilor organice, constituie principala rezervă de substanţă nutritivă pentru plante, determină cele mai importante proprietăţi ale solului. Ca o consecinţă a procesului de alterare a părţii minerale a solului şi de descompunere a materiei organice, se pun în libertate o serie de elemente, ca: N, P, S, Mg, K, Ca, Fe, Al, Mn, Na etc., din care o parte ajung în soluţia solului de unde sînt asimilate de către plante, iar o altă parte se fixează în sol prin fenomene de reţinere, constituind un rezervor de elemente nutritive.

Partea lichidă sau soluţia solului este reprezentată prin apa din sol în care se găsesc dizolvate substanţe minerale şi organice în stare de dispersie ionică, moleculară sau coloidală. Importanţa fazei lichide a solului constă în aceea că conţine elementele nutritive în formă accesibilă plantelor şi microorganismelor, adică sub formă de săruri solubile

constă în faptul că o parte din elementele minerale de nutriţie a plantelor trec în forme asimilabile simple, îndeosebi săruri minerale, în acelaşi timp însă iau naştere şi compuşi minerali complecşi de natura celor care intră în alcătuirea argilelor (mineralele argiloase). Partea minerală a solului rezultată în urma proceselor de dezagregare şi alterare şi în timpul solificării propriu-zise este reprezentată în principal prin săruri (cloruri, sulfaţi, carbonaţi, azotaţi, fosfaţi etc.), oxizi şi hidroxizi (de fier, mangan, aluminiu, siliciu etc.), minerale argiloase care formează argila din sol (principalul coloid mineral al solului), praf (particule cu diametrul între o,o2 şi o,oo2 mm) şi nisip (particule cu diametrul între 2 şi o,o2 mm). La unele soluri (celor de mai sus-amintite) se pot adăuga şi fragmente cu diametrul peste 2 mm (pietriş, pietre, bolovani).

Partea organică a solului deţine un procent mai mic decît cea minerală (circa 5-lo% în greutate), dar are o importanţă esenţială în formarea, evoluţia şi proprietăţile solului. Partea organică a solului este reprezentată prin resturile vegetale şi animale netransformate sau transformate sub acţiunea microorganismelor. Principalul constituent al părţii organice din sol îl formează humusul, materie organică coloid dispersă, de culoare brună sau brună-negricioasă. Humusul este alcătuit din compuşi de resintetizare biochimică a produselor finale de descompunere a materiei organice, acizii humici, la care se pot adăuga produse intermediare de descompunere a materiei organice. Humusul, component specific al solului, format sub acţiunea microorganismelor asupra resturilor organice, constituie principala rezervă de substanţă nutritivă pentru plante, determină cele mai importante proprietăţi ale solului. Ca o consecinţă a procesului de alterare a părţii minerale a solului şi de descompunere a materiei organice, se pun în libertate o serie de elemente, ca: N, P, S, Mg, K, Ca, Fe, Al, Mn, Na etc., din care o parte ajung în soluţia solului de unde sînt asimilate de către plante, iar o altă parte se fixează în sol prin fenomene de reţinere, constituind un rezervor de elemente nutritive.

Partea lichidă sau soluţia solului este reprezentată prin apa din sol în care se găsesc dizolvate substanţe minerale şi organice în stare de dispersie ionică, moleculară sau coloidală. Importanţa fazei lichide a solului constă în aceea că conţine elementele nutritive în formă accesibilă plantelor şi microorganismelor, adică sub formă de săruri solubile

care disociază în anioni şi cationi. In urma proceselor de reţinere, pe suprafaţa particulelor coloidale ale fazei solide se creează o rezervă de elemente nutritive adsorbite, care se eliberează în soluţie pe măsura consumării lor de către organismele vii. Aşadar, rezerva minerală nutritivă a solului nu poate fi evaluată nici prin analiza soluţiei solului şi nici prin analiza extraselor apoase. Cantitatea globală de săruri nutritive din soluţia solului este, în general, suficientă pentru satisfacerea cerinţelor trofice ale plantelor superioare şi ale microorganismelor (1,1 - 2,5 grame pe litru). Calitativ se poate constata în sol existenţa a foarte numeroase elemente minerale, de la cele mai comune macroelemente pînă la microelementele necesare în cantităţi extrem de mici (Br, Li, I, Co, Ni, Cr, Pb, V, Zn, Cu, Ag, Au etc.). Compoziţia soluţiei solului este variabilă depinzînd de condiţiile climatice, de activitatea microorganismelor etc. In ceea ce priveşte soluţia solului, pentru dezvoltarea microorganismelor o importanţă deosebită o prezintă activitatea osmotică a fazei lichide. In general, presiunea osmotică de 3-6 atmosfere (Mişustin), pe care o posedă celulele marii majorităţi a microorganismelor, este suficientă pentru dezvoltarea normală a acestora în soluri, cum sînt podzolurile (presiune osmotică de 0,4-1,4 atmosfere) sau în cernoziomuri (presiune osmotică de 2,5 atmosfere). In solurile din regiunile aride şi în solurile sărăturoase unde presiumea osmotică a fazei lichide este mare, 12-15 atmosfere, se dezvoltă numai microorganisme adaptate, cu presiunea osmotică a celulelor între 12,5 şi 16 atmosfere.

Partea gazoasă a solului. Aerul din sol ocupă toate spaţiile lăsate libere de către apă. Compoziţia aerului din sol se deosebeşte de cea a aerului atmosferic prin raportul cantitativ între gazele conţinute. Astfel, oxigenul se găseşte în cantitate mai mică decît în atmosferă, datorită faptului că este consumat în activitatea microorganismelor şi în respiraţia rădăcinilor plantelor superioare. In urma acestui fapt, procentul de oxigen din aerul solului scade de la circa 21% (în atmosferă) la numai 18-20%, iar în solurile tropicale, proporţia este şi mai mică. Procentul de CO_2 în aerul din sol este cel puţin de lo ori mai mare decît în aerul atmosferic (0,15 - 0,65% în sol faţă de 0,03% în atmosferă), datorită eliberării lui sub acţiunea de descoperire exercitată de microorganisme asupra substanţelor organice. In solurile tropicale, unde activitatea microbiană şi respiraţia numeroaselor rădăcini sînt deosebit de intense, CO_2 din aerul solului atinge 5%. Cantitatea de azot din aerul solului variază puţin (76-79% faţă de aerul atmosferic unde se gă-

seşte circa 79%). Consumul de azot molecular din aerul solului este foarte redus, el fiind folosit numai de către unele microorganisme azotfixatoare. In unele soluri, în special în cele mlăştinoase, în aerul solului se pot întîlni produse gazoase ale metabolismului bacterian, ca: NH_3, CH_4, H_2S şi H_2. Compoziţia aerului din sol este apropiată de a aerului atmosferic datorită schimbului de aer dintre sol şi atmosferă care depinde de permeabilitatea pentru aer a solului, condiţionată la rîndul ei de porozitatea necapilară a solurilor.

Reacţia solului. Din datele prezentate, reiese că microorganismele găsesc în sol toate elementele chimice necesare pentru desfăşurarea normală a metabolismului lor. Dezvoltarea normală a microorganismelor depinde însă şi de unele condiţii fizico-chimice, din care cea mai importantă este reacţia solului. Majoritatea microorganismelor se dezvoltă optim la un pH apropiat de neutru (pH=7). Reacţia solului variază, în general, între pH=4 (podzolurile) şi pH=9 (soloneţurile). După mărimea valorii pH-ului, solurile se împart în: soluri foarte puternic acide (pH=4,5); puternic acide (pH=4,5-5,5); acide (pH=5,5-6); slab acide (pH=6,0-6,8); neutre (pH=6,8-7,2); slab alcaline (pH=7,2-7,8); alcaline (pH=7,8-8,5); puternic alcaline (pH=8,5). Fiecare tip de sol are o reacţie oarecum caracteristică pe care şi-o menţine datorită capacităţii de tamponare determinată în principal de complexul coloidal al solului respectiv.

FORMAREA SOLULUI

Incepe imediat ce roca ia contact cu mediul extern, cu agenţii geologici şi în special cu acţiunea organismelor vii. Caracteristica principală a solificării constă în acumularea materiei organice şi a humusului care determină capacitatea de reţinere a substanţelor nutritive. Elementele chimice eliberate în urma alterării tind să fie spălate (levigate) spre stratele adînci ale rocii dezagregate şi alterate. Organismele vii (în principal, plantele şi microorganismele) se opun acestui proces, ducînd la reţinerea şi chiar acumularea substanţelor minerale în partea superioară a solului sub formă de materie organică şi de humus.

In cursul solificării, în esenţă, se întîlnesc o serie de procese în urma cărora ia naştere solul ca sistem complex mineral şi biologic în ca-

Scanned with OKEN Scanner

re se desfăşoară permanent şi în unitate dialectică fenomene contradic - torii, de al căror echilibru depind proprietăţile solului. Astfel, în toate solurile se desfăşoară procesul de alterare a unor minerale primare şi chiar a unora secundare, paralel cu formarea altor minerale secundare caracteristice, descompunerea resturilor vegetale şi animale şi sinteza acizilor humici, levigarea paralel cu bioacumularea, acumularea şi pierderea apei (prin evaporarea şi transpiraţia plantelor), absorbţia energiei solare şi încălzirea solului paralel cu iradierea acestei energii. Diversitatea solurilor de pe glob este dată de intensitatea deosebită cu care se desfăşoară procesele amintite în diferitele condiţii fizico-geo - grafice şi la diferitele adîncimi ale stratului dezagregat al rocii iniţiale. Pe această cale se diferenţiază pe adîncimea solului orizonturi caracteristice prin proprietăţi specifice. Intervenţia organismelor vii asupra rocii dezagregate, pe de o parte, marchează începutul procesului de solificare, iar pe de altă parte, aduce modificări esenţiale în marele circuit geologic în natură. Procesul de bioacumulare împiedică transpor - tul substanţelor minerale în apa mărilor, angrenarea lor în marele circuit geologic. Intervenţia organismelor face ca peste marele circuit geologic să se suprapună micul circuit biologic, de sens contrar. Ca rezultat al acestuia, descompunerile substanţelor organice şi minerale sînt însoţite de intense procese de sinteză organică efectuate de către organismele vii (plantele). Levigarea este însoţită de readucerea în stratele superioare a elementelor minerale asimilabile, unde sînt reţinute sub formă organică. Astfel se acumulează elementele necesare nutriţiei plantelor şi mai ales azotul, element important al solului, care în rocile iniţiale lipsea.

COMPOZIŢIA CHIMICĂ A SOLULUI

Solul este mediul în care se dezvoltă şi acţionează organismele vii şi particularităţile lui se vor reflecta în viaţa acestora şi invers. Solul, prin particularităţile constituenţilor săi influenţează simţitor activitatea biologică şi prin aceasta propria sa evoluţie. Pentru înţelegerea raporturilor între microorganisme şi sol, o importanţă deosebită prezintă cunoaşterea compoziţiei chimice a solului în comparaţie cu aceea a litosferei (tabelele 1 şi 2).

Tabela 1

Compoziţia chimică a litosferei în % pînă la adîncimea de 1o m

Denumirea elementelor	Cantitatea, în %	Denumirea elementelor	Cantitatea, în %
Oxigen	46,29	Potasiu	2,4o
Siliciu	27,61	Hidrogen	o,21
Aluminiu	7,81	Carbon	o,22
Fier	5,4o	Fosfor	o,1o
Calciu	3,77	Magneziu	o,o8
Mangan	2,68	Sulf	o,o3
Sodiu	2,36	Clor	o,o1

Tabela 2

Compoziţia chimică a unor soluri în %

Tipurile de sol	Compoziţia părţii minerale a solului lipsit de carbonaţi								Cantitatea de carbon şi azot	
	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	CaO	MgO	K_2O	Na_2O	P_2O_5	Carbon	Azot
Sol puternic podzolit din regiunea Leningrad	76,1	13,4	4,3	o,7	1,1	3,o	1,2	1,1o	2,2	o,1
Cernoziom gras din regiunea Tambov	69,7	15,2	5,6	2,6	2,2	3,3	1,3	o,39	4,6	1,5
Cernoziom din Ciakva	39,1	29,o	19,2	o,3	2,3	o,2	o,3	o,o8	4,4	–

Comparînd aceste două tabele, se constată acumularea în soluri a unor elemente biogene esenţiale, cum sînt, în primul rînd, carbonul (în litosferă o,22%, iar în soluri, pînă la 4,6%) şi azotul (în litosferă inexistent, în soluri pînă la 1,5%). De asemenea, în solurile proprii agriculturii se acumulează cantităţi importante de Mg, P şi alte elemente chimice inerente dezvoltării vieţii, care în litosferă există numai în cantităţi cu totul insuficiente.

Toate elementele chimice existente în sol se distribuie între cele trei părţi ale solului, solidă, lichidă şi gazoasă, care împreună constituie un sistem microeterogen, organomineral, polidispers, structurat şi poros.

MORFOLOGIA SOLURILOR

Levigarea şi acumularea humusului duc la diferenţierea profilelor de sol în orizonturi şi suborizonturi. Prin levigare, sub influenţa gravitaţiei, apa transportă în adîncime unele săruri şi chiar complexe coloidale (argile, humus, fier, siliciu). Levigarea împarte pătura de sol în orizonturi distincte: orizontul A (uneori cu suborizonturi), care sărăceşte în substanţe, numit şi zonă de eluviere, şi orizontul B, care se îmbogăţeşte cu substanţele spălate din orizontul A, denumit şi zonă de iluviere (fig.1). In funcţie de particularităţile fizice, chimice, structurale, biologice, climatice ale regiunii, acest proces de diferenţiere a solului decurge diferit, realizîndu-se profile diferite care includ şi alte orizonturi. Pe de altă parte, substanţele nutritive sînt readuse şi acumulate în orizontul A de către rădăcinile plantelor superioare sub formă de substanţă organică. Numărul, natura şi ordinea în care se succed orizonturile solului variază în funcţie de condiţiile geografice ale pedogenezei, care sînt diferite de la un loc la altul, de la o zonă la alta. De aceea, un tip de sol oglindeşte în profilul său morfologic, în orizonturile şi suborizonturile sale condiţiile de geneză. Principalele orizonturi ale solului sînt: A, B, C, D. Acestora li se adaugă la unele soluri şi orizonturile G, S etc.

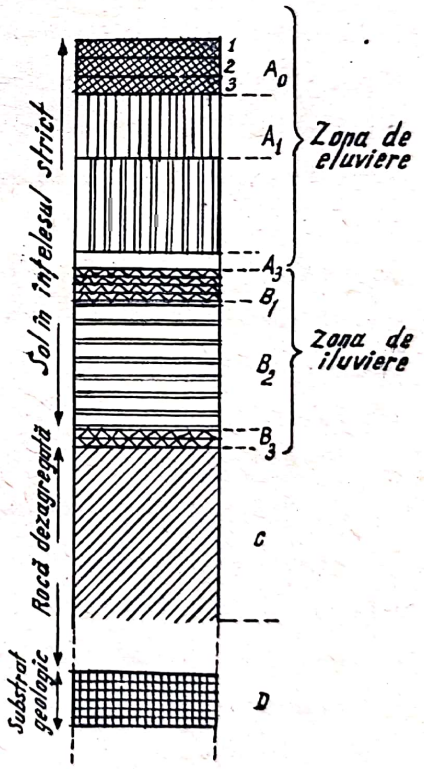


Fig.1. Schema unui profil de sol. (După J.Pochon şi H. de Barjac).

Orizontul A este orizontul superior al solului în care se dezvoltă cea mai mare parte a sistemului radicular al plantelor. Acest orizont se caracterizează prin acumularea humusului şi a majorităţii substanţelor nutritive. Totodată, orizontul A, fiind bine afînat, structurat şi aerisit, creează condiţii optime pentru dezvoltarea microorganismelor aerobe (bacterii şi ciuperci). Acest orizont prezintă o culoare ce variază după tipul de sol, de la brun-gălbui la brun-negricios şi chiar negru, în funcţie de cantitatea şi natura humusului pe care-l conţine.

Orizontul B este orizontul de acumulare a argilei şi a sesquioxizilor migraţi din orizontul A, mai ales cînd acesta este mai puternic acidifiat. Este relativ sărac în substanţe nutritive. In el îşi desfăşoară activitatea atît microorganismele aerobe cît şi anaerobe. Prezintă o culoare gălbuie-limonie pînă la roşcată, în funcţie de abundenţa oxizilor de fier. Orizontul B poate lipsi la unele soluri, cum este cazul la cernoziomuri şi la alte soluri mai puţin evoluate.

Orizontul C este orizontul inferior al solului, de acumulare a sărurilor şi în special a carbonaţilor spălaţi din orizonturile superioare. Este orizontul care se apropie cel mai mult de caracterele rocii iniţiale de care se deosebeşte numai prin marea bogăţie în carbonaţi şi prin culoarea mai albicioasă. Este, în general, bine saturat în baze, mai ales în Ca şi Mg, şi prezintă o reacţie slab alcalină. Microorganismele nu au condiţii bune de dezvoltare (lipsesc substanţele nutritive, aerisirea este slabă); de aceea ele populează în număr extrem de mic acest orizont.

Orizontul D reprezintă roca pe care s-a format solul.

Orizontul G (orizontul de glei) este orizontul specific solurilor hidromorfe (formate sub influenţa unui exces de umiditate). Orizontul G are un aspect marmorat, pestriţ, cu un fond cenuşiu-verzui, dat de fierul feros şi cu pete gălbui-portocalii, date de hidroxizii de fier, iar negre, date de sulfura fieroasă. In solurile de mlaştină, permanent umede, se creează condiţii de anaerobioză, mediu optim de dezvoltare a bacteriilor anaerobe. In solurile temporar îmlăştinate, aerobioza alternează cu anaerobioza şi respectiv oxidarea cu reducerea. Prin descompunerea anaerobă a resturilor organice, rezultă şi o serie de gaze, ca: metan, hidrogen, hidrogen sulfurat, amoniac etc., care sînt şi în atmosfera din apropierea unei mlaştini sau bălţi.

Orizontul S, orizont de săruri solubile, se întîlneşte ca orizont distinct numai la solurile sărături oase, unde sărurile solubile (cloruri, sulfaţi) se găsesc pe întreg sau aproape pe întreg profilul de sol. Din cau-

za salinităţii puternice, numai unele plante superioare (plante halofite) şi numai unele microorganisme se pot adapta şi dezvolta pe astfel de soluri.

Nu toate orizonturile menţionate se găsesc obligatoriu în orice profil de sol. Unele soluri au orizonturi mai multe, altele mai puţine, în funcţie de condiţiile de geneză. Oricare din orizonturi poate lipsi, cu excepţia orizontului A.

PRINCIPALELE TIPURI DE SOL DE PE GLOB

Tipurile de sol sînt o rezultantă a condiţiilor variate de geneză din diferite regiuni şi zone geografice ale globului. Ca soluri zonale pot fi menţionate: solul de tundră, podzolul, solurile de pădure, cernoziomul, seroziomul (solul cenuşiu de semideşert), iar ca soluri intrazonale mai importante sînt lăcoviştile şi sărăturile.

Solurile de tundră sînt soluri turboase sau turboase-gleizate, cu o grosime redusă din cauza stratului veşnic îngheţat la mici adîncimi (30-80 cm). Din cauza numărului redus de microorganisme care pot activa în condiţiile de temperatură scăzută, resturile vegetale acumulate sînt numai parţial humificate sub formă de turbă sau humus turbos. In aceste soluri s-au semnalat bacterii heterotrofe sporulate răspîndite în toate solurile din lume, ca Clostridium caproicum, Clostridium sporogenes şi un grup nesporulat reprezentat prin genul Cillobacterium. In anul 1936, P. K a p t e r o v semnalează în Siberia (53°58' latitudine nordică) în plus alge unicelulare şi filamentoase.

Podzolul este un sol acid, care se formează în condiţiile climatului temperat, rece şi umed, cu o vegetaţie de conifere sau făgete. Humificarea resturilor organice este efectuată în principal de către ciuperci, cu formare abundentă de acizi fulvici, care dau reacţie accentuat acidă acestor soluri. Principala activitate microbiană este efectuată de Cytophaga, Micrococcus, Mycobacteriaceae. S-au mai semnalat Clostridium şi bacterii ureolitice, dar nu s-a semnalat Azotobacter. Frecvenţa ciupercilor descreşte cu adîncimea. Cele mai caracteristice specii fungice pentru solurile podzolice sînt: Mucor rammanianus, Penicillium nigricans, P. roqueforti, Trichoderma viride, Absidia orchidis, Mortierella alpina etc. Humusul este

format în cea mai mare parte din produse de descompunere lignino-proteice, acumulate îndeosebi sub formă de humus brut, cu slabă capacitate de reţinere a cationilor, deci cu un slab grad de saturaţie în baze. Lipsa cationilor coagulatori face ca solul să fie lipsit de structură în orizontul superior. Toate aceste caracteristici fac din podzol un sol puţin fertil pentru agricultură.

Solurile de pădure, brune, brune-roşcate sau cenuşii, sînt solurile care se formează în condiţiile pădurilor de foioase şi corespund diferitelor nuanţe ale climatului temperat. Sînt soluri slab acide, deoarece procesul de acidifiere este mai puţin avansat ca la podzoluri. Humusul este format din acizi fulvici şi acizi huminici. In solurile de pădure, abundenţa microflorei variază după tipul de humus. Astfel, în solurile cu humus acid, de tip "Mor" (pH=4), microflora este săracă, lipsind microorganismele fixatoare de azot molecular, nitrificatoare şi celulozolitice aerobe. In aceste soluri se constată o puternică acumulare de amoniac, deoarece microflora amonificatoare este activă. In solurile forestiere cu humus, de tip "Mull", formate pe roci iniţiale sărace în carbonaţi (pH=5-6,5), microflora este mai abundentă, incluzînd genul Clostridium ca fixator de azot, precum şi agenţi celulozolitici aerobi. Intrucît microorganismele nitrificatoare au condiţii favorabile de dezvoltare, amoniacul lipseşte, în schimb sînt prezenţi azotaţii. In solurile forestiere cu humus calcic, formate pe roci calcaroase, cu pH-ul uşor alcalin (7-8), microflora este abundentă incluzînd şi Azotobacter. Toate aceste soluri sînt excelente pentru utilizare forestieră, dar pot fi folosite şi în agricultură dacă se administrează îngrăşăminte în amendamente.

Cernoziomul este un sol cu reacţie neutră sau aproape neutră, care se formează în condiţiile fitoclimatice ale stepelor temperate. Microflora acestui sol este foarte abundentă, fiind reprezentată prin toate grupele de microorganisme care execută cele mai variate procese biochimice. Este un sol bogat în humus, cu un grad ridicat de saturare în baze, cu structură glomerulară, de aceea este un sol cu o fertilitate ridicată. Humusul este activ şi rezultă în urma activităţii de descompunere şi de sinteză a bacteriilor în special aerobe. Cernoziomul se pretează pentru utilizări variate, dar cel mai mult este folosit pentru cultura cerealelor, regiunile cu cernoziom fiind marile grînare ale lumii.

Seroziomul (solul cenuşiu) este solul zonal al deşerturilor şi semideşerturilor. Este un tip de sol foarte puţin evoluat, cu profil scurt şi slab diferenţiat în ceea ce priveşte orizonturile. Cantitatea redusă în masă organică şi intensa mineralizare prin acţiunea microorganismelor

ca şi prin procesele de oxidare explică cantitatea mică de humus, care nu reuşeşte să dea solului decît culoarea cenuşie. Repartiţia pe verticală a microorganismelor în aceste soluri este caracteristică, şi anume frecvenţa lor maximă este situată între 30 şi 60 cm. In seroziomurile nelucrate, lipsesc fixatorii de azot molecular nesimbiotici. Sînt prezente toate grupele fiziologice de microorganisme legate de ciclurile carbonului şi azotului. Dintre bacterii se pot cita Clostridium (în seroziomurile cultivate), Bacillus, Achromobacter, Actinomyces, Pseudomonas, Chromobacterium; dintre ciuperci: Aspergillus, Mucor, Trichoderma, Penicillium, Rhizopus, Trichothecium etc. Dintre alge, cele mai răspîndite sînt: Chlorophyceae-le răspîndite la 10-15 cm adîncime. Protozoarele reprezentate în special prin ciliate, flagelate şi amoebe au drept principale caracteristici de adaptare talia mică (2-5 microni) şi rezistenţa la uscăciune. Acest sol este bogat în baze şi are o reacţie alcalină. Fertilitatea potenţială este mare, dar cea efectivă este redusă din cauza lipsei de apă care să solubilizeze sărurile necesare plantelor. De aceea irigarea, din cele mai vechi timpuri, s-a dovedit măsura cea mai eficace pentru fertilizarea deşerturilor.

Lăcovistea este un sol local, intrazonal, care se formează în condiţiile unui exces permanent sau temporar de umiditate. Ca o consecinţă a umidităţii excesive, resturile organice ale vegetaţiei hidrofite se humifică anaerob, cu formare de humus brun-vineţiu, cu miros de baltă specific dolinelor eutrofe, alcaline, din zona de stepă-silvostepă. In zona rece, unde la excesul local de umiditate se adaugă şi o temperatură scăzută, care limitează mult numărul microorganismelor din sol, se acumulează humus turbos caracteristic tinoavelor sau turbăriilor acide oligotrofe. Tot datorită excesului de umiditate se formează orizontul de glei (orizontul G), specific acestor soluri.

Sărăturile, sau solurile sărăturoase, se formează în condiţii în care apa freatică mineralizată se află la mică adîncime (pînă la circa 3 m). Apa este încărcată cu diferite săruri în soluţie (cloruri, sulfaţi, carbonaţi), printre care şi săruri de sodiu ($NaCl$, Na_2SO_4, Na_2CO_3), nocive pentru plante. Sărăturile apar mai frecvent sub formă de petice în zonele de pustiu, semipustiu, stepă şi silvostepă, adică acolo unde evaporaţia la suprafaţa solului depăşeşte cantitatea de precipitaţii. Iau naştere în felul acesta curenţi ascendenţi ai apei freatice, pentru a echilibra deficitul de umiditate de la suprafaţa solului. Apa încărcată cu săruri ajunsă la suprafaţă se evaporă, iar sărurile se depun. Acest fenomen con-

tinuîndu-se timp îndelungat duce la acumularea în sol a unei mari cantităţi de săruri, nocive pentru majoritatea plantelor. De aceea, în solurile salinizate nu se pot dezvolta decît un număr redus de plante care s-au adaptat la marea presiune osmotică a soluţiei solului şi la nocivitatea sărurilor, plante cunoscute sub numele de halofite. De asemenea, microorganismele caracteristice acestor soluri au o presiune osmotică ridicată, ceea ce le permite executarea normală a funcţiilor vitale.

Caracteristicile diferitelor tipuri de sol se reflectă în regimul lor termic. La rîndul ei, temperatura solurilor este un factor important în dezvoltarea microorganismelor. O cantitate însemnată din energia solară este absorbită de către sol în decursul timpului. Solurile care conţin humus absorb o cantitate mai mare de căldură. Solurile acoperite cu vegetaţie sînt mai reci vara, şi ceva mai calde iarna decît cele neacoperite. Stratul de zăpadă exercită şi el o influenţă asemănătoare, fiind un izolator termic care contribuie efectiv la menţinerea relativ constantă a temperaturii solului. In toate aceste cazuri, solurile au o temperatură mai ridicată decît a aerului atmosferic.

Din cele expuse rezultă că majoritatea solurilor prin toate proprietăţile lor pot asigura diferitelor grupe de microorganisme condiţiile fizico-chimice şi trofice favorabile pentru dezvoltarea lor normală.

RĂSPÎNDIREA MICROORGANISMELOR ÎN SOL

In natură, microorganismele sînt răspîndite în toate mediile (sol, apă, aer etc.) care oferă condiţii favorabile pentru desfăşurarea activităţii lor vitale. In soluri, microorganismele sînt răspîndite mai ales în stratele superficiale. După tipul şi particularităţile solurilor, variază numărul şi compoziţia specifică a microflorei. Cantităţi mari de microorganisme există şi în solurile insulelor polare şi în nisipurile pustiurilor. Principalele procese microbiologice, ca: nitrificarea, denitrificarea, fermentarea ureei şi a proteinelor, descompunerea grăsimilor se desfăşoară în toate solurile ca şi în cele din regiunea temperată sub acţiunea microorganismelor. Microorganismele răspîndite în sol aparţin următoarelor grupe taxonomice: bacterii, actinomicete, ciuperci, alge şi protozoare. Numeroasele cercetări ale microbiologilor au scos în evidenţă

răspîndirea diferită a microorganismelor în soluri, în funcţie de tipul şi caracteristicile fizico-chimice ale solurilor (soluri acide, neutre sau alcaline), în funcţie de anotimp, compoziţia părţii minerale şi organice a solurilor etc. Variaţia sezonieră a condiţiilor climatice, natura culturilor determină oscilaţii în ceea ce priveşte numărul şi compoziţia microflorei unui anumit sol. Astfel, M ü n t z a semnalat în solurile din jurul Parisului existenţa a două maxime anuale ale activităţii microbiene, una primăvara şi una toamna. Factorul geografic influenţează evident frecvenţa şi răspîndirea microorganismelor în diferitele tipuri de sol. In solurile nordice există o microfloră specifică, adaptată la deficitul termic din aceste regiuni. Cu tot universalismul şi dinamismul micropopulaţiei solului, solurile sudice se dovedesc mai bogate în microorganisme. In aceste soluri, după M i ş u s t i n (1964), se dezvoltă mai mulţi bacili şi actinomicete decît în solurile nordice. In solurile de deşert, factorii ecologici, dintre care unii sînt limitanţi, condiţionează dezvoltarea unei microflore rezistente la uscăciune şi temperatură. Chiar atunci cînd umiditatea solurilor deşertice nu este factor limitativ, dezvoltarea microorganismelor este limitată de sursa alimentară principală care este substanţa organică ca şi în cazul solurilor cultivate. R. C a m e r o n şi colaboratorii (1964) constată că în solurile deşertice se dezvoltă cel mai bine alge şi bacterii facultativ anaerobe. Cultivarea solurilor modifică simţitor abundenţa micropopulaţiei, dar compoziţia microflorei care apare după luarea în cultură a solurilor depinde de metodele agrotehnice şi agrochimice aplicate. Astfel, în solurile cultivate, numărul bacteriilor într-un gram de sol este de la 1-lo miliarde. Dacă la greutatea vie a bacteriilor se adaugă şi greutatea vie a celorlalte microorganisme, se ajunge la un total de 2,5-lo tone de microorganisme pe hectarul de teren arabil.

Sînt interesante datele privitoare la răspîndirea pe verticală a microorganismelor. In general, numărul de microorganisme scade cu adîncimea, alteori se pot întîlni strate sterile între strate populate cu microorganisme. In tabela 3 sînt reprezentate date asupra răspîndirii pe verticală a bacteriilor în diferite soluri podzolice, după R a z u m o v şi R e m e z o v, în milioane germeni pe gramul de sol.

Tabela 3

Răspîndirea bacteriilor în orizonturile unor soluri podzolice

Orizont genetic	Adîncimea cm	Podzol mijlociu, înţelenit	Adîncimea cm	Podzol mijlociu, arătură	Adîncimea cm	Podzol mijlociu, pădure
A_1	1,o-4,5 4,5-7,5 7,5-11,o	955,3 852,9 565,9	2-5 1o-15 -	1o86,o 982,4 -	o-2,5 2,5-5,o 5-8	2693,o 2246,6 1781,5
A_1/A_2	11-15	4o2,6	-	-	9-12	782,6
A_2	15-19 19-23	87,1 71,o	16-18 2o-22	618,2 382,5	12-15 16-2o	517,o 355,9
A_2/B_1	23-28	5o,o	-	-	21-25	265,6

Asupra cauzelor acestei repartiţii pe verticală a microorganismelor s-au emis diferite păreri. Astfel s-a presupus că scăderea continuă a activităţii microbiologice în orizonturile inferioare ale solului s-ar datora fie lipsei de aer, fie acidifierii soluţiei solului, fie insuficienţei de substanţe nutritive. Cauza adevărată a acestei situaţii este mai curînd rezultatul acţiunii complexe şi concomitente a tuturor acestor factori.

Un loc important în microflora solului îl ocupă actinomicetele, a căror răspîndire, uneori destul de mare, este legată şi de faptul că suportă cu uşurinţă insuficienţa de apă, mai cu seamă în perioada de fructificare. Astfel, actinomicetele se pot dezvolta la o umiditate a solului de 2o% din capacitatea totală a acestuia pentru apă. In asemenea condiţii, bacteriile mor sau trec în stare latentă. De aceea, în perioadele secetoase se observă o predominare a actinomicetelor spre deosebire de perioadele umede cînd predomină evident bacteriile. De asemenea, actinomicetele abundă în special toamna cînd solul se acoperă cu resturi vegetale lignificate, care constituie cel mai potrivit material nutritiv pentru aceste microorganisme. In asemenea condiţii, numărul lor ajunge la o jumătate din micropopulaţia totală a solului. Din toate aceste date asupra răspîndirii microorganismelor şi condiţiilor de care depinde, reiese că pentru diferite tipuri de sol există forme dominante şi caracteristice de microorganisme. Această concluzie coincide cu părerile lui K l u y v e r, care a observat că, cu toată răspîndirea universală a microorganismelor, ele nu

se dezvoltă energic decît în condiţii ecologice bine determinate la care s-au adaptat în cursul evoluţiei lor. Din moment ce s-a realizat concordanţa între specificul adaptării microorganismelor şi condiţiile ecologice existente, ele se dezvoltă intens, ajungînd pînă la frecvenţe de cîteva miliarde de bacterii şi mai mult de jumătate milion de ciuperci pe gramul de sol. O astfel de masă de microorganisme în plină activitate vitală nu poate să nu aibă o importanţă enormă în biologia solului. Acţionînd în sol asupra substanţelor organice şi minerale prin procese de descompunere şi sinteză, ele fac să se acumuleze în sol o serie de substanţe nutritive necesare plantelor şi contribuie totodată la menţinerea structurii solului.

Natura substratului nutritiv din diferite soluri influenţează pregnant compoziţia microflorei. In litierele forestiere, unde umiditatea este ridicată şi relativ constantă, iar aciditatea mai mare, este favorizată dezvoltarea ciupercilor, deoarece bacteriile şi actinomicetele sînt mult mai sensibile la aceşti factori. In general, ciupercile, ca şi alte grupe de microorganisme, sînt concentrate spre suprafaţa solului, unde rezervele nutritive sînt mai abundente şi aeraţia solului mai mare. Dacă în stratele superficiale ale solurilor neumbrite, umiditatea este satisfăcătoare, se dezvoltă numeroase alge autotrofe. In solurile mai aride, algele se dezvoltă în profunzime (pînă la 1 m), trecînd la un mod de nutriţie heterotrof. Protozoarele fiind în mare majoritate prădătoare se dezvoltă cu precădere în stratele în care frecvenţa bacteriilor este maximă.

Capitolul II

INTERRELAŢIILE DINTRE DIFERITELE GRUPE DE MICROORGANISME DIN SOL

In sol trăiesc, activează şi se reînnoiesc necontenit microorganisme care îndeplinesc funcţii esenţiale în procesele de transformare a substanţelor din sol şi care ajută nemijlocit la fertilizarea solului. Această imensă lume alcătuieşte "biocenoza solului" şi constituie comunitatea interioară de viaţă a acestuia. In această comunitate, între microorganismele din sol se stabilesc relaţii foarte complicate. Sînt relativ rare cazurile cînd două feluri de microorganisme care se află în acelaşi mediu se dezvoltă independent unul faţă de altul.

Interrelaţiile dintre microorganismele existente în sol sînt foarte variate. După efectul acestor interrelaţii asupra microorganismelor participante se disting două tipuri de bază: antagonism şi asociaţie.

ANTAGONISMUL

Cuprinde acele tipuri de interrelaţii în urma cărora unul din organismele participante este favorizat prin inhibarea dezvoltării altor microorganisme. Antagonismul microbian se realizează prin patru mecanisme de bază.

1. Concurenţa pentru hrană. Rezervele nutritive din sol sînt relativ reduse faţă de posibilităţile de înmulţire ale microorganismelor. Din această situaţie rezultă o concurenţă pentru substanţele nutritive, în urma căreia, unele microorganisme predomină suprimînd temporar alte microorganisme. Astfel, în primele stadii de descompunere a resturilor organice din sol se dezvoltă o bogată floră heterotrofă de bacterii, fungi şi actinomi-

cete, care împiedică total dezvoltarea unei flore autotrofe. Din contra, microflora autotrofă dezvoltă o activitate foarte intensă în solurile în care procesul de humificare este foarte avansat.

2. Formarea de antibiotice. Este forma cea mai răspîndită a antagonismului microbian. Antibioticele sînt substanţe elaborate de către anumite microorganisme, capabile de a distruge alte microorganisme. Natura chimică şi proprietăţile acestor substanţe nu depind de sursa de hrană ci, în general, de condiţiile externe. Aşadar, antibioticele au o specificitate pronunţată atît în ceea ce priveşte speciile care le produc cît şi formele pe care le distrug. Antibioticele acţionează asupra microorganismelor distrugîndu-le fie printr-o puternică inhibare a creşterii şi dezvoltării lor, fie prin lizare. Astfel este cunoscut că specia Ophiobolus graminis (specie patogenă) este inhibată în prezenţa speciei Trichoderma lignorum, sau a speciilor de Rhizoctonia. De asemenea, unele specii patogene de Fusarium sînt puternic inhibate în prezenţa unor bacterii din genurile Pseudomonas şi Achromobacter, precum şi de diferite actinomicete. Pornind de la asemenea premise, s-ar putea crede că introducerea în anumite soluri puternic infectate cu microorganisme patogene a unor specii producătoare de antibiotice ar fi suficientă pentru înlăturarea patogenităţii solului. In realitate, o asemenea măsură trebuie însoţită de o schimbare a condiţiilor ecologice care să favorizeze dezvoltarea de specii producătoare de antibiotice. Condiţiile ecologice favorizează atît dezvoltarea microorganismului producător cît şi cantitatea de antibiotice produse.

3. Parazitismul este caracteristic unor bacterii care, aşa cum a observat L. S t a r k e y, sînt capabile să folosească substanţele nutritive din miceliile ciupercilor vii. In asemenea cazuri, miceliul este invadat de bacterii, deşi în aparenţă are aspectul obişnuit, continuîndu-şi creşterea .

4. Prădătorismul este caracteristic anumitor microorganisme care consumă integral corpul altor microorganisme. Aşa sînt numeroase protozoare, iar din microfloră numeroase myxomycete, myxobacterii etc. S-a demonstrat (F.J. A s c o m b e şi B.N. S i n g h) că speciile prădătoare manifestă o evidentă electivitate faţă de bacteriile pe care le consumă.

Interrelaţiile de asociaţie. Alături de relaţiile antagonice, între reprezentanţii populaţiei microbiene din sol se pot stabili şi interrelaţii de asociaţie şi ajutor reciproc. Variabilitatea interrelaţiilor

de asociaţie care se stabilesc între microorganismele solului pot aparţine la două tipuri principale: simbiotice şi metabiotice.

SIMBIOZA

In cadrul relaţiilor simbiotice, microorganismele participante venind în contact nemijlocit fac un schimb de produse de metabolism. Acest schimb se reflectă favorabil în biologia ambelor organisme care împreună se dezvoltă cu mult mai bine decît fiecare în parte. Adaptarea reciprocă este profundă şi obligatorie, stabilindu-se o strictă diviziune a funcţiilor între simbionţi. In cele mai multe cazuri de simbioză apar structuri morfologice cu totul noi şi constante în cursul generaţiilor. Un exemplu clasic de simbioză sînt lichenii, rezultatul convieţuirii anumitor alge cu anumite ciuperci, în urma căreia ia naştere un organism vegetal nou, bine diferenţiat din punct de vedere morfologic, fiziologic şi ecologic. Se ştie că această combinaţie este inseparabilă, deoarece ciuperca heterotrofă absoarbe din mediu apă şi substanţe minerale pe care le furnizează algei, iar aceasta sintetizează substanţa organică, folosind CO_2 atmosferic. Relaţii simbiotice se pot stabili şi între microorganisme şi plantele superioare. Aşa este cazul micorizei, cînd miceliile fungice primesc de la plantă carbon organic şi furnizează plantei apa absorbită din sol şi azotul care poate proveni din fixarea azotului molecular. O altă simbioză importantă din punct de vedere agricol se realizează între anumite plante, mai cu seamă leguminoase şi bacterii specifice care infectînd rădăcinile formează pe acestea nodozităţi. Bacteriile primesc de la plantă apă, săruri minerale şi carbonul organic (glucide) şi cedează plantei azot organic rezultat în urma fixării biologice a azotului molecular.

Formarea factorilor de creştere. După cum se ştie, unor organisme le sînt necesare substanţe nutritive specifice fără de care viaţa încetează. Formarea acestor substanţe stimulatoare de creştere este asigurată de unele microorganisme capabile să le sintetizeze în mod spontan şi să le dea în mediul înconjurător unde sînt folosite de alte microorganisme. S-a dovedit adesea că unele bacterii şi ciuperci pot fi crescute pe medii nutritive artificiale numai împreună, deoarece astfel decurge schimbul reciproc de substanţe indispensabile fiecăreia care sînt sintetizate numai

de unul dintre microorganismele cultivate. Aceste cazuri nu pot fi considerate ca o simbioză adevărată, totuşi au o importanţă mare pentru dezvoltarea bună a microorganismelor în culturi mixte.

METABIOZA

In natură, diferitele organisme nu duc o existenţă izolată. Astfel se creează condiţii de metabioză, adică asigurarea dezvoltării succesive a unor organisme pe seama produselor rezultate din activitatea altor microorganisme. In metabioză, un organism prelungeşte procesul produs de altul, eliberîndu-l de produsele activităţii vitale şi creînd în acelaşi timp baza pentru o bună dezvoltare ulterioară a acestuia (M.V.Fedorov).

Interrelaţiile metabiotice sînt avantajoase microorganismelor care convieţuiesc, deşi asemenea microorganisme se pot dezvolta şi independent. Există numeroase exemple de metabioză între microorganismele din sol.Astfel, bacteriile aerobe în cursul respiraţiei consumă oxigenul molecular din sol, favorizînd dezvoltarea bacteriilor obligat anaerobe. Un alt exemplu şi mai tipic este cazul nitrathacteriilor care oxidează acidul azotos la acid azotic. Acestea depind foarte strict de existenţa nitritbacteriilor care oxidează amoniacul la acid azotos. Totodată, activitatea nitratbacteriilor favorizează dezvoltarea nitritbacteriilor, eliberînd mediul ambiant de acidul azotos toxic. Un alt exemplu tipic de interrelaţii metabiotice este cel dintre azotobacter şi bacteriile celulozolitice.Dacă pe un mediu de silicagel îmbinat cu azotat de sodiu (2,5 gram la litru)se însămînţează pe o hîrtie de filtru o cultură pură de Myxococcus şi apoi se inoculează placa cu Azotobacter chroococcum, între aceste două microorganisme se creează o interrelaţie metabiotică. In primele zile are loc o dezvoltare vizibilă a azotobacterului. In urma acestui fapt, bacteriile celulozolitice se dezvoltă rapid şi descompun activ celuloza.După cum au arătat unii cercetători, azotobacterul poate îmbunătăţi condiţiile de dezvoltare a bacteriilor celulozolitice prin eliminarea în mediul ambiant a unor produşi de activitate vitală. De asemenea, rezultatele experienţelor au arătat că azotobacterul poate utiliza produsele descompunerii atît aerobe cît şi anaerobe ale celulozei.

Capitolul III

BACTERIILE DIN SOL

Bacteriile sînt cele mai răspîndite microorganisme din sol şi activitatea lor este cea mai importantă în comparaţie cu a celorlalte grupe de microorganisme dar datorită dimensiunilor foarte mici ale celulelor, biomasa bacteriană este probabil mai mică decît jumătate din masa totală a microorganismelor prezente în sol. Deşi unele procese biochimice executate de bacterii pot fi efectuate şi de microorganisme aparţinînd altor grupe taxonomice, bacteriile ies în evidenţă datorită capacităţii lor de multiplicare rapidă şi descompunere energică a diferitelor substanţe naturale. In general, în solurile aerate predomină bacteriile aerobe şi ciupercile. In schimb, în solurile lipsite parţial sau total de oxigen, aproape toate transformările chimice şi biologice sînt executate de bacteriile anaerobe sau facultativ anaerobe. Răspîndirea bacteriilor în soluri se datoreşte marii lor capacităţi de adaptare. In primul rînd, bacteriile pot folosi substanţe nutritive foarte variate, o parte din ele avînd şi capacitatea de a utiliza azotul atmosferic. Insăşi capacitatea de a se dezvolta în medii lipsite de oxigen este o importanţă adaptare care permite răspîndirea lor în medii improprii vieţii altor microorganisme. De asemenea, capacitatea de sporulare a multor bacterii condiţionează persistenţa lor în medii periodic improprii dezvoltării vieţii. De exemplu, unii bacili care formează endospori pot rezista la condiţii nefavorabile, deoarece fiziologia endosporului este cu totul deosebită de fiziologia bacteriei. Astfel, endosporii rezistă la temperaturi ridicate şi la deshidratare prelungită, persistînd în stare latentă mult timp, după ce condiţiile nefavorabile distrug formele vegetative. Din punct de vedere ecologic, S.N.Vinogradski împarte microorganismele solului, în special bacteriile, în două grupe mari: specii autohtone sau indigene şi specii zimogene. Populaţia autohtonă este formată din alte specii a căror

frecvenţă nu suferă variaţii remarcabile, deoarece nutriţia lor se bazează pe fracţia organică a solului şi nu pe surse nutritive externe, cum sînt resturile vegetale sau îngrăşămintele organice introduse în sol. Prin urmare, numărul lor rămîne relativ constant cu toată variaţia condiţiilor de nutriţie. Speciile zimogene sînt de obicei mai puţin răspîndite în soluri, deoarece existenţa lor se bazează pe surse nutritive externe, cum sînt resturile vegetale sau îngrăşămintele organice. In schimb frecvenţa lor creşte foarte mult cînd în sol apar resturi vegetale sau se introduc îngrăşăminte. In asemenea condiţii, ele prosperă, numărul lor creşte enorm, ceea ce duce la epuizarea surselor nutritive, după care se distrug şi devin resturi, apoi, sursă alimentară pentru alte microorganisme.

Stabilirea frecvenţei şi repartiţiei bacteriilor în sol este dificilă. Aceasta se poate realiza prin procedee de numărare a germenilor dezvoltaţi pe medii nutritive solide în plăci Petri. Pentru aceasta, se iau cantităţi cunoscute de sol - cel mai potrivit, un gram - care se agită foarte bine cu o cantitate de 99 ml apă de robinet, sterilizată. Apoi, din această suspensie se execută diluţii din lo în lo pînă la un milion. Din fiecare diluţie bine agitată se trece cîte un ml în capsule Petri sterile. Se adaugă apoi în fiecare capsulă cîte 15 ml bulion de carne peptonat şi agarizat în stare lichidă, la temperatura de + 45°C. Se agită cu prudenţă mediul cu suspensia de sol. După solidificarea mediului, plăcile Petri, în număr de 6-lo pentru fiecare diluţie, se trec în termostat la +25°C. Aceste operaţii se execută neîntîrziat după colectarea probei de sol, folosind exclusiv apă sterilă şi sticlărie de laborator sterilă (pipete, baloane, capsule Petri), pentru a preveni orice posibilitate de infectare. După 48 de ore, plăcile Petri se scot din termostat, se aleg acele diluţii la care s-au dezvoltat colonii distincte şi se determină numărul de colonii pe fiecare placă. Inmulţind numărul coloniilor de pe o placă - care nu trebuie să depăşească numărul de 5o-2oo - cu diluţia suspensiei de sol, se determină numărul de bacterii în gramul de sol luat în lucru.

Această tehnică care dă rezultate satisfăcătoare în microbiologia generală nu este întrutotul adecvată pentru determinarea frecvenţei bacteriilor din sol, datorită faptului că solul este un sistem biologic eterogen care conţine microorganisme foarte diferite cu variate cerinţe nutritive. Nici un mediu nutritiv nu satisface cerinţele de creştere ale tuturor microorganismelor, iar pentru multe specii, aceste cerinţe nici

nu sînt cunoscute. Aceste deficienţe fac să se constate existenţa unui număr de microorganisme cu mult mai mic decît cel real. Un alt inconvenient al metodelor de numărare pe plăci Petri constă în faptul că multe bacterii trăiesc în sol numai sub formă de colonii, ai căror germeni nu pot fi separaţi atunci cînd se prepară diluţiile de sol pentru infectarea plăcilor. In cazul acesta, fiecare colonie este numărată ca un singur germen. De aceea, rezultatele în cazul examinării unei serii de probe din acelaşi sol sînt foarte variabile şi diferenţele sînt mai mari decît limitele admise de calculele statistice. Erorile acestei metode pot fi întrucîtva evitate, dacă pentru analize se iau amestecuri de probe colectate din mai multe puncte ale terenului. In cazul probelor izolate, variaţiile se pot datora şi unor condiţii microecologice. De exemplu, în jurul aglomerărilor de radicule şi alte resturi vegetale, populaţia microbiană poate fi de zeci şi sute de ori mai mare ca în restul solului. De aceea, microflora trebuie privită în perspectivă largă, ecologică. Micile variaţii de pH sau de substanţe organice influenţează simţitor în spaţii mici de ordinul centimetrilor. Pe suprafeţe mari de metri sau kilometri, astfel de influenţe se pierd. Pentru studiul ecologic al microorganismelor solului există o metodă calitativă de o mare importanţă, care permite urmărirea microorganismelor pe lamă în condiţii fizice foarte apropiate de cele din sol, cu păstrarea asociaţiei normale dintre microorganisme. Astfel, se pot recunoaşte marile grupe ecologice, asociaţiile dintre microorganisme şi particulele inerte de sol, dintre microorganisme şi rădăcinile plantelor, ceea ce reprezintă avantaje foarte mari pentru studiile de ecologie microbiană. Prin această metodă se pot studia şi microorganismele care nu pot fi observate prin alte metode, deoarece, de exemplu, protozoarele şi algele nu se înmulţesc şi nu produc colonii în mediu cu agar. Aceste metode de observare directă, pe lîngă avantajul unui studiu ecologic, permit şi o numărare a germenilor existenţi în sol. Astfel metodele executate prin procedeul plăcilor dau valori care variază de la lo^5-lo^7 bacterii pe gramul de sol uscat. Valorile obţinute prin metodele de numărare directă dau valori între lo^8 şi lo^9 bacterii pe gramul de sol uscat. Dezavantajul acestor metode constă în faptul că înregistrează şi microorganismele moarte care nu participă la activitatea biologică a solului.

MORFOLOGIA BACTERIILOR DIN SOL

Bacteriile sînt microorganisme unicelulare. Indivizii activează mai mult sau mai puţin independent, deşi uneori ei sînt grupaţi în mici colonii. Ca formă exterioară se disting trei tipuri de bază: forma sferică, care cuprinde bacterii, denumite coci, forma de bastonaş drept, în care intră bacilii şi forma de bastonaş curbat, care cuprinde două categorii de germeni, şi anume, vibrioni, cînd curbura nu depăşeşte un semicerc şi spirili, cînd prezintă mai multe curburi. Dimensiunile generale ale celulelor bacteriene variază între o,1 şi loo microni lungime, şi o,1 - 1,o microni grosime. Există şi forme submicroscopice de bacterii, denumite forme bacteriene filtrabile, care trec prin filtre bacteriene, dar acestea apar numai excepţional sub acţiunea unor factori nefavorabili de mediu şi în anumite condiţii, unele din ele pot genera din nou forme normale.

Cu toată simplitatea structurală aparentă, celulele bacteriene posedă mecanismele biochimice şi structurale necesare realizării metabolismului lor specific. Celula bacteriană posedă o protoplasmă înconjurată de o membrană. In protoplasmă există diferite incluziuni, vacuole şi corpuscule cromatice, care în anumite stadii de dezvoltare se aglomerează, sugerînd un nucleu.

Membrana celulară a bacteriilor este subţire, incoloră şi numai la formele mari se poate distinge la microscop. In cazul formelor mici, existenţa membranei se poate pune în evidenţă prin plasmoliza celulelor bacteriene în soluţie de ClNa 2o%, sau prin colorare pe cale chimică. Membrana celulei bacteriene este constituită de fapt din două învelişuri, unul intern şi unul extern. Membrana internă, citoplasmatică, este membrana propriu-zisă, fiind formată din citoplasmă condensată conţinînd proteine, acizi nucleici, substanţe colorabile. Această membrană are proprietăţi de semipermeabilitate şi în timpul plasmolizei se desprinde de învelişul extern, dar nu şi de protoplasmă, a cărei parte constitutivă este. Învelişul extern, peretele celular, este relativ rigid, puţin colorabil, menţinînd forma şi dimensiunile celulei bacteriene. Compoziţia lui chimică este în linii generale cunoscută şi variază de la specie la specie. Astfel, la Bacterium xylinum este format din celuloză, la Bacterium tumefaciens, din hemiceluloză. Celulele anumitor specii de bacterii pot fi înconjurate de o capsulă mucilaginoasă a cărei compoziţie chimică di -

feră după specii. In general, capsulele conţin variate polizaharide şi uneori compuşi azotaţi. La unele specii s-a pus în evidenţă prezenţa acizilor nucleici în capsule. Caracteristicile capsulei sînt ereditare, folosind uneori şi la determinarea speciilor, deşi uneori dimensiunile sau chiar compoziţia lor sînt influenţate de condiţiile de mediu. Cînd prin compoziţia ei este uşor solubilă, capsula pierde delimitarea morfologică, devine strat mucos şi include într-o zooglee mai multe celule bacteriene.

Protoplasma celulei bacteriene este constituită dintr-un sistem coloidal lipo-proteic cu îmbibaţie limitată în care faza dispersantă este apa, iar faza dispersată este formată din particule de natură chimică variată. Complexul de bază este cel lipo-proteic care condiţionează proprietăţile chimice şi fizico-chimice ale protoplasmei. In celulele tinere, protoplasma este optic uniformă, iar mai tîrziu apar vacuole uşor observabile pe viu. In citoplasmă se găseşte răspîndit difuz acidul ribonucleic, mai abundent la celulele tinere. Tot în citoplasmă există şi corpusculi de substanţă nucleară (cromatină, ADN) şi incluziuni de substanţe de rezervă, ca metacromatină, lipide, glicogen, săruri minerale, sulf etc.

Nucleul bacteriilor constituie o importantă problemă morfofiziologică. In general, substanţa nucleară se găseşte în stare difuză sau fin granulară în citoplasmă. Uneori, această substanţă se aglomerează într-un singur corpuscul, denumit nucleoid, deoarece nu posedă structurile caracteristice nucleilor adevăraţi: membrană, cromozomi, nucleoli. Nucleoizii prezintă unele asemănări cu nucleii adevăraţi, ei se divid amitotic în cursul multiplicării bacteriilor. Această diviziune a nucleoizilor a fost observată numai la myxobacterii şi la cîteva bacterii, dintre care amintim Staphylococcus flavo-cyaneus. Nucleoizii au un diametru de 0,4-0,5 microni, fiind mai uniformi la celulele culturilor tinere, la care ocupă 5-15% din volumul protoplasmei. Unii autori au considerat drept nuclei o serie de incluziuni care se colorează cu coloranţi bazici ca şi cromatina. Asemenea incluziuni se fragmentează în anumite momente, ceea ce se poate confunda cu o diviziune a unor nuclei adevăraţi, dar asemenea fragmentări sînt inegale şi neconcordante cu ritmul diviziunilor celulare. Aceasta duce la concluzia că sensibilitatea la coloranţii nucleari o posedă şi alte substanţe decît cromatina (K r a s i l n i k o v, 1961).

Cilii sînt organite cu ajutorul cărora se realizează deplasarea activă a bacteriilor. După ultimele cercetări, cilii sînt formaţi din filamente fine spiralizate în jurul unui filament central. Acest ansamblu se leagă de un corpuscul bazal, situat sub membrana celulară despre care

se presupune că reprezintă centrul motor al cilului. Lungimea cililor bacterieni variază după specie. De obicei, lungimea cililor depăşeşte lungimea corpului bacteriei. Numai la puţine forme mobile, lungimea cililor este de zeci de ori mai mare decît lungimea celulei. Pe suprafaţa celulei, cilii sînt distribuiţi variabil. Bacteriile ce posedă un singur cil la un capăt al celulei se numesc monotrihe, cele care au cîte un cil la ambele extremităţi, amfitrihe, cele cu mai mulţi cili la unul din capetele celulei, lofotrihe, iar formele care au cili distribuiţi pe toată suprafaţa se numesc peritrihe. Ciliaţia bacteriilor este un caracter ereditar, care poate fi utilizat în determinarea speciilor bacteriene (fig.2).

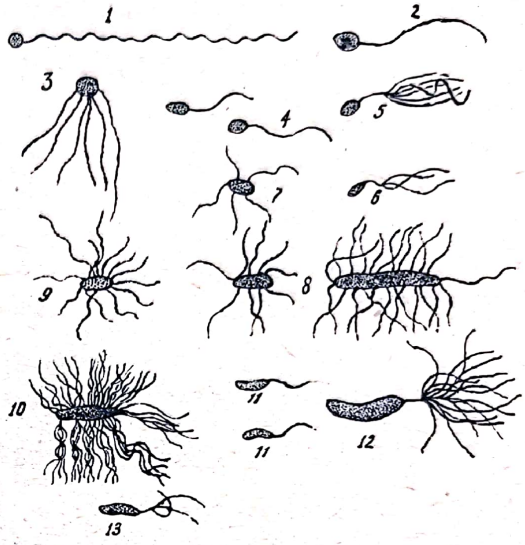


Fig.2. Tipuri de ciliaţie - 1, 2, 4 şi 11 - monotrihe ; 5, 6, 12 şi 13 - lofotrihe ; 3, 7, 8, 9 şi 10 - peritrihe ; (După M.V.Fedorov).

Sporii şi sporogeneza la bacterii au fost observate încă în anul 1838 de către E h r e n b u r g, şi în anul 1852 de către P e r t y, care descriu sporii sub numele de formaţii intraplasmatice temporare. Rolul sporilor ca forme de rezistenţă a fost sesizat de L. P a s t e u r.

In prezent, la bacterii sînt cunoscute trei categorii de spori care diferă după calităţile de rezistenţă, după rol şi geneza lor, şi anume: endosporii, artrosporii şi microciştii. Noţiunea de spor bacterian se referă mai cu seamă la endospori, ca formă de rezistenţă a bacteriei la condiţii nefavorabile. Dintre bacterii, endosporii sînt caracteristici mai ales bacililor, fiind obligaţi la genul Clostridium şi facultativi la genul Bacillus. Cercetări recente au scos în evidenţă structura internă a endosporului. Acesta este constituit dintr-o sporoplasmă centrală, slab colorabilă, densă, conţinînd unul sau cîţiva nucleoizi, înconjurată de o membrană citoplasmatică. La exterior există un înveliş caracterizat printr-o mare impermeabilitate faţă de reactivi. Datorită rezistenţei sporilor la factori externi nefavorabili (temperatură de +100°C, substanţe chimice toxice), sporogeneza era considerată ca un mijloc de conservare a speciei. Pe de altă parte, se constată că în celulele bacteriene, supuse

la condiţii nefavorabile, nu se formează spori, ceea ce contrazice această concepţie. Aşadar, sporogeneza este o funcţie biologică normală, care se desfăşoară numai în condiţii normale de existenţă, iar sporii, datorită structurii lor particulare care le imprimă o mare rezistenţă la acţiunea agenţilor fizici şi o mare impermeabilitate la agenţii chimici, reprezintă şi o formă de conservare a speciei.

MULTIPLICAREA BACTERIILOR DIN SOL

In general, ciclul de dezvoltare al bacteriilor se compune din două faze: creşterea şi multiplicarea. In condiţii favorabile de nutriţie, acest ciclu se repetă, ducînd la mărirea numărului de celule bacteriene în mediu. In aceste condiţii, în protoplasma bacteriană au loc procese intense de neoformare a substanţei de constituţie pe baza cărora celulele cresc. Această creştere continuă pînă la atingerea unei limite, cînd survine diviziunea celulară. In acest moment, în regiunea mediană a celulei se formează un perete transversal care împarte celula în două. Dacă celulele-fiice sînt egale, diviziunea se numeşte izomorfă, dacă sînt inegale, heteromorfă. Diviziunea heteromorfă se întîlneşte rar, mai cu seamă la celulele bătrîne care cresc în medii nutritive epuizate. Celulele-fiice se pot separa imediat, iar la unele specii pot rămîne reunite temporar prin tractusuri de membrană celulară, formînd filamente, aşa cum este cazul la unele bacterii sporulate. La bacteriile filiforme, această situaţie este permanentă, caracterizînd anumite specii (fig.3).

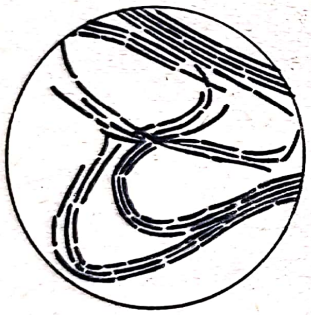


Fig.3. Celule în filamente lungi la Bacillus mycoides. (După N.A.Krasilnikov).

Un alt tip mai rar de diviziune celulară este strangularea. In acest caz, la mijlocul celulei apare o gîtuitură care separă celulele-fiice. Această strangulare poate persista sub forma unui canal care leagă două sau mai multe celule (fig.4). Această formă de diviziune celulară se observă, de exemplu, la Azotobacter, Bacillus cereus etc.

Unele bacterii se multiplică prin fragmentarea conţinutului celular în numeroase elemente. Aceasta are loc prin formarea în interiorul

celulei a mai multor pereţi în sensuri diferite. Aşa este cazul la Bacillus megaterium, la care dintr-o singură celulă apar cîteva celule-fiice (fig.5). La Bacillus mycoides, celule-le-fiice se formează din corpusculi reproducători care apar prin diviziune heteromorfă la extremitatea celulei-mame (fig.6).

La unele bacterii, multiplicarea celulelor se realizează prin înmugurire, proces asemănător celui de la drojdii (Saccharomycetaceae). Aşa este, de exemplu, la Bacterium megaterium şi la Azotobacter chroococcum (fig.7). In cazul bacteriilor, multiplicarea prin înmugurire, diviziune heteromorfă şi fragmentarea celulelor se observă în culturile bătrîne ale căror celule sînt pe cale de degenerare. Formele rezultate sînt puţin viabile.

Fig.4. Stadii ale diviziunii prin strangulare la Bacillus cereus. (După M.V. Fedorov).

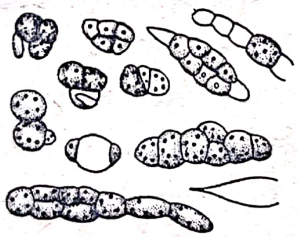


Fig.5. Fragmentarea celulelor la Bacillus megaterium (După Kudreavţev)

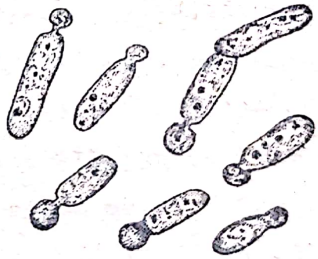


Fig.6. Separarea de corpusculi reproductivi prin diviziune heteromorfă la Bacillus mycoides (După N.A.Krasilnikov).

Fig.7. Multiplicarea celulelor bacteriene prin înmugurire:
A - la Bacterium megaterium;
B - la Azotobacter chroococcum, forme de involuţie. (După N.A. Krasilnikov).

Unii autori admit existenţa unor procese sexuate la bacterii, dar după F e d o r o v (1963), baza experimentală pentru asemenea concluzii este încă insuficientă.

SISTEMATICA BACTERIILOR DIN SOL

In cursul dezvoltării microbiologici solului, pentru clasificarea bacteriilor, s-au folosit diferite criterii. Primele încercări se bazau pe caracteristici ecologice. O astfel de încercare a fost schema lui S.N.Vinogradski, care împarte populaţia bacteriană a solului în floră autohtonă şi floră zimogenă. O altă încercare este clasificarea pe baze fiziologice. Astfel, după capacitatea de dezvoltare în prezenţa sau în lipsa oxigenului, s-au stabilit trei categorii fiziologice de bacterii: aerobe, anaerobe şi facultativ anaerobe. Pe baze morfologice, bacteriile au fost împărţite în trei grupe mari: bacili, coci, spirili. De asemenea, drept criteriu de clasificare s-a folosit şi capacitatea de sporulare.

In prezent, sistematica bacteriilor ia în consideraţie concomitent caracterele morfologice, fiziologice şi de sporulaţie. Poziţia bacteriilor în sistemul de clasificaţie a organismelor inferioare nu este în întregime stabilită. Bacteriile posedă caractere care le apropie de toate grupele mari de organisme inferioare, alge, ciuperci şi chiar proto - zoare inferioare. Nu se poate considera că sistematica bacteriilor are o bază filogenetică şi nici că reflectă principalele verigi ale evoluţiei organismelor inferioare. Principala dificultate în clasificarea bacteriilor este simplitatea morfologică care trebuie completată cu cercetarea caracteristicilor fiziologice.

După S a c h s (1874) şi K r a s i l n i k o v (1949), bacteriile se încadrează în filumul Protophyta, clasa Schizomycetes. După sistemul de clasificare al lui D.H.B e r g e y, această clasă cuprinde următoarele zece ordine: Pseudomonadales, Chlamydobacteriales, Hyphomicrobiales, Eubacteriales, Actinomycetales, Caryophanales, Beggiatoales, Myxobacteriales, Spirochaetales, Mycoplasmatales.

Particularităţile morfologice şi de reproducere ale actinomicetelor au determinat pe M.V.Fedorov să le considere ca o grupă de trecere între bacterii şi ciuperci. In cursul de faţă, clasificarea bacteriilor

se va trata după sistemul lui Bergey, insistîndu-se numai asupra grupelor taxonomice interesante pentru microbiologia solului.

Ordinul Pseudomonadales. Acest ordin cuprinde specii, în general, Gram negative, cu celule subţiri (curbate sau spiralate, rigide, rareori în perechi sau lanţuri), elipsoidale, cocoide sau sferice, de obicei de un micron diametru. Celulele au flageli polari, iar uneori sînt incluse într-o masă zoogleică. Nu formează endospori, iar reproducerea se realizează prin sciziune. La speciile heterotrofe, energia este asigurată prin procese oxidative sau fermentative. Unele specii sînt răspîndite în sol şi ape puţin adînci. Sînt şi specii parazite. Cuprinde două subordine: Rhodobacteriinae, cu specii fotoautotrofe, ale căror celule au pigmenţi fotosintetizanţi roşu, purpuriu, brun, iar unele specii conţin sulf liber în protoplasmă şi Pseudomonadineae cu specii, în general, chimioautotrofe, lipsite de pigmenţi fotosintetizanţi, deşi produc pigmenţi de altă natură, solubili sau insolubili în apă.

Subordinul Rhodobacteriineae. Familia Thiorhodaceae. Speciile acestei familii au celule sferice, ovoide, spiralate, vibrioni, bastonaşe lungi şi scurte, adesea reunite în agregate de forme şi mărimi variabile. Celulele posedă pigmenţi asimilatori ca bacterioclorofila verde şi carotenoizi galbeni şi roşii, cu ajutorul cărora execută fotosinteză în lumina roşie şi i n f r a r o ş i e pînă la lungimea de undă de 900 milimicroni. Bioxidul de carbon este redus în condiţii anaerobe cu ajutorul hidrogenului din H_2S, fără eliberare de oxigen, cînd sulful se acumulează sub formă de picături în celulă. Probabil mai pot utiliza ca donator de hidrogen şi unele substanţe organice, fapt pentru care sînt considerate potenţial mixotrofe. Cuprinde genuri, ca Thiosarcina, Thiodictyon, Thiocystis, Thiospirillum (fig.8, studiate de S.N.Vinogradski, în 1888).

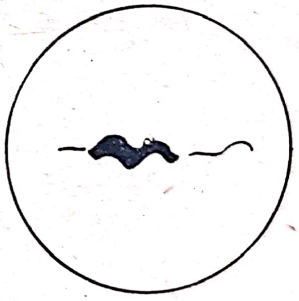


Fig.8. Thiospirillum. (După M.V.Fedorov).

Familia Athiorhodaceae. Sînt bacterii purpurii în formă de bastonaşe, vibrioni, spirale sau sfere, mobile prin flageli polari. Posedă bacterioclorofilă şi carotenoizi care asigură un metabolism fotosintetic. Ca donatori de hidrogen folosesc numai substanţe organice şi în nici un caz compuşi ai sulfului. In condiţii de lumină se comportă ca bacterii anaerobe sau microaerofile, iar unele specii pot fi cultivate la întuneric în condiţii aerobe. Include genurile Rhodopseudomonas şi Rhodospirillum.

Familia Chlorobacteriaceae. Sînt bacterii verzi cu celule izolate sau în agregate de forme şi dimensiuni variate. La lumină posedă un meta-

bolism fotosintetic în care utilizează ca donator de hidrogen numai H_2S fără emisiune de oxigen, iar sulful elementar este eliberat sub formă de granule extracelulare. Conţin clorofilă care din punct de vedere chimic diferă de clorofila plantelor superioare ca şi de bacterioclorofilă. Cuprinde şase genuri (Chlorobium, Pelodictyon, Chlorochromatium etc.), răspîndite în special în ape sulfuroase, a căror validitate este îndoielnică datorită polimorfismului accentuat.

Subordinul Pseudomonadineae. Familia Nitrobacteriaceae. Sînt celule bacilare, elipsoidale, sferice (Nitrosococcus) sau spiralate (Nitrosospira). Microorganisme strict chimioautotrofe nitrificatoare, strict aerobe, răspîndite în sol şi ape. Genuri importante pentru microbiologia solului: Nitrosomonae, Nitrosococcus, Nitrobacter etc.

Familia Methanomonadaceae. Microorganisme bacilare, mobile care obţin energia vitală prin oxidarea compuşilor simpli ai hidrogenului şi carbonului. Se găsesc în sol şi ape. Această familie cuprinde trei genuri: Methanomonas, Hydrogenomonas şi Carboxydomonas.

Familia Thiobacteriaceae. Sînt celule bacilare drepte sau curbate, alteori în formă de coci. Oxidează compuşii sulfului depunînd sulful liber fie în interiorul, fie în exteriorul celulei. Sînt bacterii sulfuroase, slab colorate, incluse adesea în colonii sau într-o masă gelatinoasă. Se găsesc în medii cu hidrogen sulfurat, sulf liber sau tiosulfaţi, pe care îi oxidează la H_2SO_4. Familia cuprinde cinci genuri, dintre care mai importante sînt: Thiobacillus, Thiovolum, Thiospira, Thiobacterium.

Familia Pseudomonadaceae. Cuprinde microorganisme cu celule în formă de bastonaşe drepte şi lungi şi rareori în formă de coci. Prezintă flageli polari unici sau multipli, au pigmenţi celulari solubili în apă sau insolubili. Speciile sînt în majoritate oxidative şi rareori fermentative. Se găsesc răspîndite în sol, ape dulci, marine şi ape foarte sărate. Familia include şi specii patogene pentru plante. Genuri mai importante sînt: Azotomonas, fixator de azot molecular cu randament scăzut şi poate reduce nitraţii la nitriţi; Acetobacter, bacil mobil de dimensiuni variabile, oxidează alcoolul etilic la acid acetic (fig.9); Pseudomonas cuprinde specii răspîndite în sol unde descompun proteine şi zaharuri. Unele specii secretă antibiotice, altele un pigment cu fluorescenţă galbenă-verzuie; Photobacterium, bacterii fosforescente răspîndite în bazine cu apă; Mycoplana descompune hidrocarburi aromatice.

Fig.9. Forme aberante de Acetobacter pastorianum (după M.V.Fedorov).

Familia Caulobacteriaceae. Sînt ferobacterii în formă de bastonaş, cu celule singulare sau lanţuri scurte. Pe una din feţele celulei secretă hidroxid feric care formează filamente ramificate sau nu, cu care unele specii se fixează de substrat. Formele mobile prezintă flageli polari. Sînt răspîndite în medii acvatice care conţin compuşi de fier. Familia are patru genuri: Caulobacter, Gallionella (fig.1o), Siderophacus, Nevskia.

Familia Siderocapsaceae. Sînt ferobacterii libere sau fixate, cu celule sferice, elipsoidale sau baciliforme, flagelate polar cu capsulă mucilaginoasă în care se depozitează compuşi ai fierului şi manganului. Sînt răspîndite în ape dulci fiind autotrofe, facultativ autotrofe sau heterotrofe. Cuprind zece genuri, dintre care mai importante sînt: Siderocapsa, Sideromonas, Ferribacterium, Ochrobium, Ferrobacillus etc.

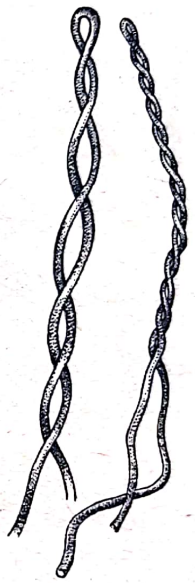


Fig.1o. Ferobacterii - Gallionella. (După M.V.Fedorov).

Familia Spirilaceae. Bacteriile din această familie sînt bastonaşe simple, curbate sau răsucite în spirală, frecvent înlănţuite. Speciile mobile posedă un singur flagel, rareori doi, sau smocuri polare. In majoritate sînt oxidative, aerobe sau facultativ anaerobe. Se cunosc şi genuri anaerobe, ca Desulfovibrio şi Vibrio. Există şi specii parazite şi patogene. Ca genuri principale amintim Vibrio cu speciile Vibrio desulfuricans şi Vibrio cholerae (fig.11), Spirillum cu specii saprofite răspîndite în ape impure (fig.12), Cellvibrio, Cellfalcicula, Myconostoc etc.

Ordinul Chlamydobacteriales. Cuprinde forme bacteriene de apă dulce şi marină care se reproduc prin spori flagelaţi sau conidii imobile. In jurul celulei posedă o teacă de substanţă organică impregnată cu oxizi de fier sau mangan. Genuri principale: Leptothrix, Toxothrix, Crenothrix, Clonothrix.

Ordinul Eubacteriales. Include specii cu celule simple, rigide, sferice sau bacilare, imobile, obişnuit peritrihe şi uneori monotrihe, Gram negative. La speciile familiei Bacillaceae se formează endospori tipici. Bacteriile

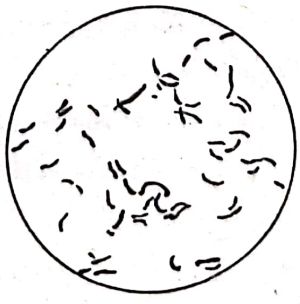


Fig.11. Vibrio cholerae - cultură pură. (După M.V.Fedorov).

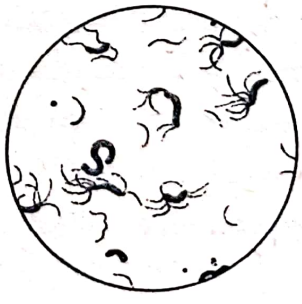


Fig.12. Spirili acvatici cu cili coloraţi. (După M.V.Fedorov).

Familia Caulobacteriaceae. Sînt ferobacterii în formă de bastonaş, cu celule singulare sau lanţuri scurte. Pe una din feţele celulei secretă hidroxid feric care formează filamente ramificate sau nu, cu care unele specii se fixează de substrat. Formele mobile prezintă flageli polari. Sînt răspîndite în medii acvatice care conţin compuşi de fier. Familia are patru genuri: Caulobacter, Gallionella (fig.1o), Siderophacus, Nevskia.

Familia Siderocapsaceae. Sînt ferobacterii libere sau fixate, cu celule sferice, elipsoidale sau baciliforme, flagelate polar cu capsulă mucilaginoasă în care se depozitează compuşi ai fierului şi manganului. Sînt răspîndite în ape dulci fiind autotrofe, facultativ autotrofe sau heterotrofe. Cuprind zece genuri, dintre care mai importante sînt: Siderocapsa, Sideromonas, Ferribacterium, Ochrobium, Ferrobacillus etc.

Fig.1o. Ferobacterii - Gallionella. (După M.V.Fedorov).

Familia Spirilaceae. Bacteriile din această familie sînt bastonaşe simple, curbate sau răsucite în spirală, frecvent înlănţuite. Speciile mobile posedă un singur flagel, rareori doi, sau smocuri polare. In majoritate sînt oxidative, aerobe sau facultativ anaerobe. Se cunosc şi genuri anaerobe, ca Desulfovibrio şi Vibrio. Există şi specii parazite şi patogene. Ca genuri principale amintim Vibrio cu speciile Vibrio desulfuricans şi Vibrio cholerae (fig.11), Spirillum cu specii saprofite răspîndite în ape impure (fig.12), Cellvibrio, Cellfalcicula, Myconostoc etc.

Ordinul Chlamydobacteriales. Cuprinde forme bacteriene de apă dulce şi marină care se reproduc prin spori flagelaţi sau conidii imobile. In jurul celulei posedă o teacă de substanţă organică impregnată cu oxizi de fier sau mangan. Genuri principale: Leptothrix, Toxothrix, Crenothrix, Clonothrix.

Ordinul Eubacteriales. Include specii cu celule simple, rigide, sferice sau bacilare, imobile, obişnuit peritrihe şi uneori monotrihe, Gram negative. La speciile familiei Bacillaceae se formează endospori tipici. Bacteriile

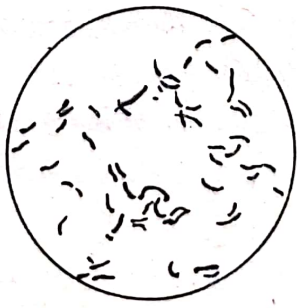


Fig.11. Vibrio cholerae - cultură pură. (După M.V.Fedorov).

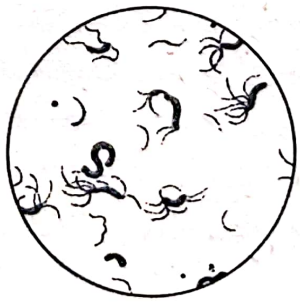
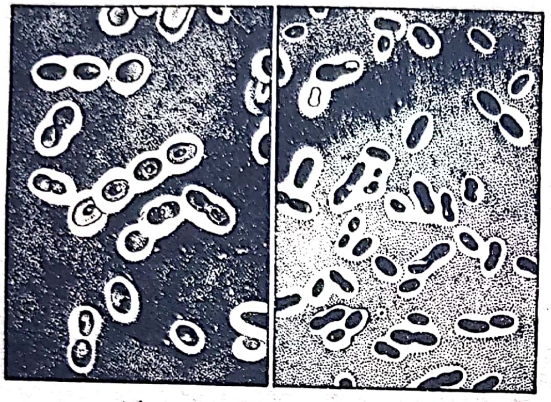


Fig.12. Spirili acvatici cu cili coloraţi. (După M.V.Fedorov).

acestui ordin se reproduc prin diviziune transversală şi rareori prin două-trei plane perpendiculare. Sînt răspîndite în ape dulci, saline, în sol. Speciile patogene parazitează plantele şi animalele.

Familia Azotobacteriaceae are un singur gen, Azotobacter (fig.13), cu celule bacilare sau în formă de coci cu ciliaţie peritrihă, obligat aerobe, nesporulate. Ca sursă de energie utilizează hidraţi de carbon, avînd capacitatea de a fixa azotul atmosferic. Speciile sînt răspîndite în soluri şi ape, cresc bine pe medii nutritive sărace în azot combinat, pe care se dezvoltă sub formă de peliculă superficială.



1 2

Fig.13. Azotobacter: 1- Azotobacter agile; 2- Azotobacter chroococcum. (După M.V. Fedorov).

Familia Rhizobiaceae cuprinde specii cu celule bacilare, Gram negative, nesporulate, mobile prin flageli sau imobile. Speciile sînt aerobe, saprofite, simbiotice sau fitopatogene. Utilizează hidraţii de carbon fără formare de acizi. Cînd parazitează pe plante, provoacă anomalii de creştere pe rădăcini şi tulpini. Genul Rhizobium include bacteriile de nodozităţi ale plantelor leguminoase. Formele iniţial bacilare trec cu timpul în bacteroizi ramificaţi sau piriformi. Genul Chromobacterium cuprinde bacili ciliaţi peritrih, saprofiţi sau paraziţi, foarte răspîndiţi în sol. Dintre formele saprofite, unele descompun compuşi organici stabili (chitină, celuloză), unele specii produc pigmenţi de diferite culori şi în special violeţi. Genul Agrobacterium cuprinde specii fitopatogene.

Familia Achromobacteriaceae. Celulele speciilor din această familie sînt bacili mici, uniformi, mobili prin flageli peritrihi sau imobili, Gram negativi. Unele specii lichefiază gelatina. Metabolizează glucoza pînă la acizi. Unele specii pot reduce nitraţii. In general sînt răspîndite în sol, ape sărate sau dulci. Foarte puţine specii sînt parazite sau patogene. Cuprinde cinci genuri, dintre care mai importante sînt: Achromobacter, Beneckea.

Familia Enterobacteriaceae. Sînt bacterii intestinale, întîmplător patogene, unele proteolitice. Din această familie, specia Proteus vulgaris participă la amonificarea substanţelor proteice din sol.

Familia Micrococcaceae cuprinde specii cu celule sferice care în timpul diviziunii devin eliptice, nesporulate. Celulele sînt izolate, uneori în perechi, tetrade, catene, sau agregate neregulate. In majoritate sînt Gram pozitive, mai rar Gram variabile sau Gram negative. Cuprinde specii aerobe, facultativ anaerobe şi anaerobe aerotolerante. Speciile anaerobe fermentează hidraţii de carbon cu eliberare de gaze: CH_4, CO_2 şi H_2. Există specii saprofite, parazite şi chiar patogene. Sînt răspîndite în apă marină şi sol. Genuri mai importante: Micrococcus, răspîndit în sol, formează colonii pigmentate în albastru-verzui, portocaliu şi galben. Descompune proteine şi zaharuri, iar unele specii secretă antibiotice. Genul Sarcina cu patru subgenuri: Zymosarcina, Methanosarcina, Sarcinococcus, Urosarcina, bacterii de putrefacţie răspîndite în sol şi ape. Celulele se divid prin trei planuri perpendiculare formînd cuburi de opt celule.

Familia Lactobacillaceae. Bacili Gram pozitivi, de obicei imobili, lungi, uneori scurţi pînă la coci, cîteodată încatenaţi formînd lanţuri fals ramificate. Fermentează hidraţii de carbon pînă la acid lactic, uneori cu formare de alcool etilic şi CO_2. In general, speciile sînt anaerobe şi microaerofile, dintre care unele reduc nitraţii. Genuri mai importante: Streptococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Cillobacterium etc.

Familia Bacillaceae. Celulele sînt Gram pozitive în formă de bastonaşe care produc endospori cilindrici, elipsoidali sau sferici, localizaţi central, subterminal sau terminal. Flagelaţia este peritrihă sau lipseşte la formele imobile. Include forme aerobe, facultativ anaerobe, anaerobe şi microaerofile. Fermentează zaharurile uneori cu producere intensă de gaze. Unele specii sînt termorezistente pînă la 55°C. Speciile proteolitice hidrolizează gelatina. Majoritatea acestor bacterii sînt saprofite şi se găsesc în sol, puţine specii sînt parazite sau patogene. Familia cuprinde două genuri: Bacillus cu cîteva sute de specii extrem de variate în privinţa caracterelor fiziologice, la care sporul este mai mic decît diametrul celulei. Clostridium include specii în majoritate anaerobe, la care sporul poate întrece diametrul celulei, aceasta luînd forma de fus sau măciucă. Unele forme fixează azotul molecular utilizînd ca sursă de carbon zaharuri, alcooli şi acizi organici. Reprezentanţi: Clostridium pasterianum (fig.14), Granulobacter pectinovorum etc.

Ordinul Actinomycetales. Cuprinde microorganisme unicelulare, filamentoase cu miceliu ramificat. Se reproduc prin spori sau conidii care se separă prin strangulare la extremităţile filamentelor. Prin germinarea

acestor elemente reproducătoare, iau naştere micelii vegetative. Actinomicetele sînt considerate ca forme de trecere între bacterii şi ciuperci. Se deosebesc de ciuperci prin faptul că filamentele miceliului sînt cu mult

Fig.14. Clostridium butyricum (celule sporulate în formă de fus). (După M.V.Fedorov).

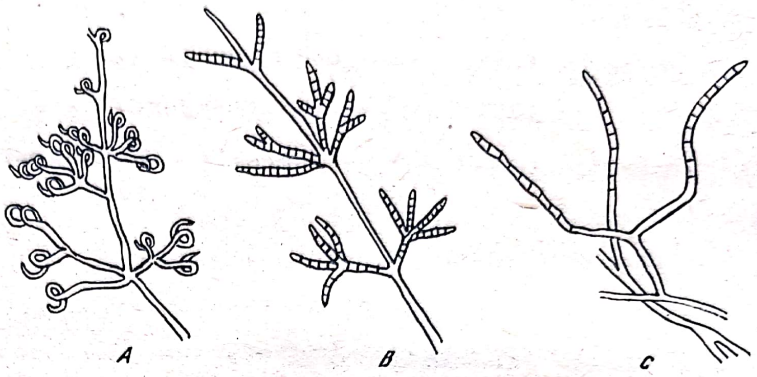


Fig.15. Structura sporoforilor la Actinomyces: A - A. glaucus; B- A.verticillatus; C- A.longisporus ruber. (După Krasilnikov).

mai subţiri. Cultivate pe medii nutritive solide, miceliile actinomicetelor prezintă o parte fixată de substrat şi o parte aeriană pe care se dezvoltă sporoforii, a căror structură diferă după specie: spiralaţi, curbaţi sau drepţi (fig.15). In sporofori iau naştere pe cale partenogenetică spori sferici, ovali sau cilindrici (fig.16). In condiţii favorabile de germinare, din spori se dezvoltă micelii vegetative tipice pentru actinomicete. Structura microscopică a citoplasmei, în stare vie, este relativ omogenă; în aceasta se găsesc nucleoizi, granule de volutină şi vacuole. Capacităţile fiziologice multilaterale şi complexitatea proceselor biochimice care se realizează în celula actinomicetelor duc la presupunerea că structurile funcţionale ale acestei celule nu se limitează la elemente nucleare, granule de volutină, vacuole. Intr-adevăr, microscopia electronică dovedeşte complexitatea structurală a celulei actinomicetelor. Astfel, G a l u e r t şi H o p w o o d (1959-1961) constată la Streptomyces coelicolor o membrană citoplasmatică bistratificată de 2-3 milimicroni grosime,

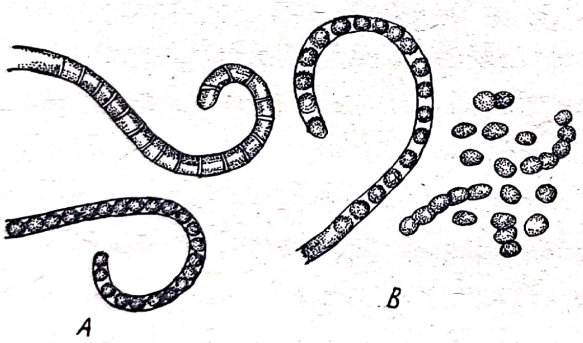


Fig.16. Formarea sporilor la Actinomyces longisporus: A- Fragmentarea conţinutului celulelor sporofore; B- spori maturaţi şi eliberaţi. (După Krasilnikov).

care separă citoplasma de peretele celular. Aceiaşi autori constată în interiorul citoplasmei formaţii membranoase care, după părerea lor, ar putea îndeplini rolurile reticulului endoplasmatic şi mitocondriilor de la plantele superioare. La Streptomyces aureofaciens, cercetătorii H. H a g e d o r n şi D. S t u a r t (1959-1960) pun în evidenţă structuri apropiate de mitocondrii. In citoplasma sporilor pe cale de germinare şi a hifelor tinere, Gauert şi Hopwood pun în evidenţă particule compacte de 150 Å care sînt considerate ca particule ribonucleoproteidice. Coloniile de actinomicete au consistenţă solidă şi în condiţii aerobe sînt incolore sau pigmentate; în condiţii anaerobe se depigmentează. In general, actinomicetele sînt microorganisme plastice, aproape toate caracterele lor modificîndu-se după natura mediului şi condiţiile de cultură. Astfel, actinomicetele pot fi aerobe sau anaerobe, patogene sau saprofite, acidorezistente sau nerezistente.

Familia Mycobacteriaceae cuprinde celule sferice pînă la bacilare, la care pe medii de cultură obişnuite nu iese în evidenţă ramificarea. Sînt Gram pozitive, aerobe sau mezoaerofile, lipsite de conidii. Se găsesc în sol şi uneori parazitează pe om şi animale. Cuprinde două genuri: Mycobacterium şi Mycococcus.

Familia Actinomycetaceae. Miceliile tinere sînt neseptate, mai tîrziu apar septumuri care separă segmente mici bacilare sau sferice. Alteori, miceliul rămîne neseptat şi produce spori pe hife aeriene. Cuprinde cîteva specii acidorezistente. Genuri: Nocardia şi Actinomyces.

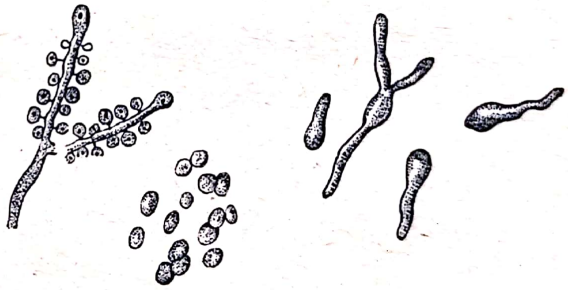


Fig. 17. Formarea sporilor la Micromonospora vulgaris. (După Krasilnikov).

Familia Streptomycetaceae. Miceliul este neseptat, iar conidiile se formează pe sporofori. Marea majoritate a speciilor sînt răspîndite în sol şi numai puţine sînt parazite. Genuri: Streptomyces, Micromonospora (fig. 17) şi Thermoactinomyces.

Familia Actinoplanaceae. Miceliul vegetativ este inclus în substrat (apă, corpul animalelor şi al plantelor). Miceliul aerian lipseşte. Reproducerea se realizează prin spori formaţi în sporangi. Sînt răspîndite în sol şi ape dulci. Cuprinde două genuri: Actinoplanes, cu spori flagelaţi şi mobili şi Streptosporangium, cu spori imobili şi neflagelaţi.

Ordinul Beggiatoales. Celulele speciilor din acest ordin sînt izolate sau grupate în filamente şi se înmulţesc prin diviziune transversală. Nu posedă pigmenţi asimilatori. Se deplasează fără flageli prin alunecare pe suprafaţă. Sînt sulfobacterii care trăiesc în ape dulci cu sau fără H_2S şi pe materii organice în descompunere. Pe suprafaţa sau în interiorul celulei se pot găsi granule de sulf uneori însoţite de $CaCO_3$.

Familia Beggiatoaceae. Cuprinde sulfobacterii cu celule izolate sau în filamente care se deplasează prin alunecare. In prezenţa H_2S depune sulf liber, în interiorul celulei. Nu se cunosc structuri speciale pentru reproducere. Structura celulară este asemănătoare cu a algelor Oscillatoriaceae, dar lipseşte clorofila şi ficocianina. Cu toate aceste caractere, familia Beggiatoaceae nu mai poate fi trecută în rîndul algelor albastre, aşa cum se proceda în tratatele mai vechi. Majoritatea posedă capsule mucilaginoase şi sînt chimioautotrofe pe baza oxidării H_2S. Genuri principale: Beggiatoa, Thioploca şi Thiothrix.

Alte genuri importante ale ordinului Beggiatoales sînt: Leucothrix din familia Leucotrichaceae şi Achromatium din familia Achromatiaceae.

Ordinul Myxobacterales . Cuprinde specii cu celulele vegetative în formă de bastonaşe flexibile care se deplasează prin alunecare pe substrat. Reproducerea se realizează prin diviziune transversală. Coloniile sînt

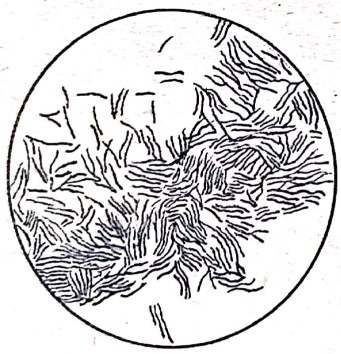


Fig.18. Cytophaga aurantiaca - cultură pură. (După M.V.Fedorov).

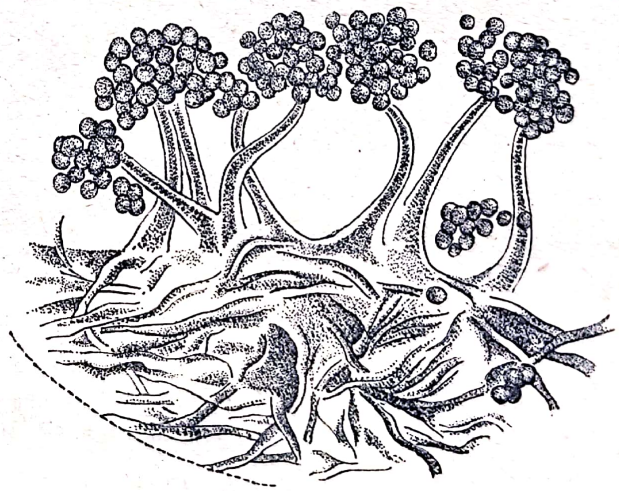


Fig.19. Chondromyces aurantiacus. (După M. V.Fedorov).

subţiri, peliculare. Se reproduc şi prin microcişti la formarea cărora participă întreaga celulă. Multe specii au fost descrise fiind izolate din băligarul de ierbivore, unde descompun celuloza, dar s-a constatat că

aceleaşi specii se găsesc şi în microflora solului. Descompun uşor celuloza, agarul, chitina. Sînt aerobe sau mezoaerofile.

Familia Cytophagaceae. Specii cu celule în formă de bacili flexibili, uneori ascuţiţi la capete, care nu formează microcişti (fig.18). Se deplasează prin alunecare. Această familie prezintă un singur gen, Cytophaga.

Familia Archangiaceae cuprinde bacili scurţi, rotunjiţi la capete, uneori cu capetele celulei mai late decît partea centrală. Corpii de fructificare sînt de forme variabile. Din această familie fac parte genurile Archangium şi Stelangium.

Familia Sorangiaceae are un singur gen Sorangium, care se prezintă ca bacili ce evoluează spre coci. Formează chisturi neregulate înconjurate de o membrană comună. Execută descompunerea celulozei în gunoiul de grajd.

Familia Polyangiaceae. Microorganisme răspîndite în sol şi în gunoiul de grajd unde execută descompunerea celulozei. Cuprinde patru genuri: Polyangium, Synangium, Podangium şi Chondromyces (fig.19).

Familia Myxococcaceae. Microorganisme bacilare care spre perioada de fructificare se scurtează dînd naştere la microcişti de formă sferică sau elipsoidală. Alte specii se reproduc prin spori galbeni sau bruni. Include genurile: Myxococcus, Chondrococcus, Angiococcus, Sporocytophaga. Numai unele specii descompun celuloza.

Capitolul IV

CIUPERCILE DIN SOL (PHYLLUM MYCOPHYTA)

Ciupercile microfite constituie o componentă foarte importantă a microflorei solului în care s-au identificat 137 de genuri cu circa 800 de specii. Frecvenţa lor variază între 8 000 şi 1 000 000 de indivizi pe gramul de sol. Sînt microorganisme heterotrofe, saprofite sau parazite. Suportă un pH mai scăzut decît bacteriile şi actinomicetele. Numărul lor creşte pînă la pH=4 (optimum), după care scade simţitor. Descompun energic numeroase substanţe organice şi invadează litiera solurilor de pădure, în special a pădurilor de răşinoase în care pH-ul este mai scăzut. Un rol important îl au ciupercile de micoriză, în majoritate Basidiomycetes, care înlocuind perii radiculari asigură arborilor nutriţia minerală şi absorbţia apei. Unele ciuperci produc substanţe antibiotice participînd la antagonismul microbian şi la reglarea echilibrului biologic al solului.

MORFOLOGIA CIUPERCILOR DIN SOL

Aparatul vegetativ este un tal variat constituit, a cărui complexitate structurală creşte pe măsura evoluţiei filogenetice. Astfel, la Archimycetes, talul este un gimnoplast lipsit de membrană, la Plasmodiophoraceae, este un plasmodiu (o asociaţie de gimnoplaşti), adică o masă protoplasmatică plurinucleată lipsită de perete celular. La Saccharomycetaceae, talul este un dermoplast, adică o celulă cu membrană, protoplasmă şi nucleu, iar la Phycomycetes este un sifonoplast format din filamente ramificate, nesepatate. La restul ciupercilor talul este un miceliu constituit din filamente pluricelulare septate, denumite hife. Miceliul poate fi de două tipuri:

filamentos, în special la Ascomycetes şi unele Basidiomycetes, şi masiv, la majoritatea basidiomycetelor.

REPRODUCEREA CIUPERCILOR

In general, miceliile se reproduc prin diferite tipuri de spori, elemente adesea unicelulare capabile de a supravieţui în condiţii care distrug miceliul. Ciupercile inferioare produc pe cale asexuată zoospori mobili. La cele superioare reproducerea este de două feluri: perfectă, prin spori sexuaţi rezultaţi din contopiri celulare sau nucleare şi imperfectă, prin spori asexuaţi. La numeroase specii, aceste două moduri de sporulare alternează. La grupe mari de ciuperci, ca Fungi imperfecţi şi Mycelia sterilia, nu se cunoaşte proces sexuat.

SISTEMATICA PRINCIPALELOR CIUPERCI DIN SOL

Phyllum Mycophyta cuprinde patru clase: Archimycetes, Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes.

Clasa Archimycetes este alcătuită din ciuperci primitive al căror tal este un gimnoplast şi uneori un plasmodiu. Cuprinde numeroase specii fitopatogene, care nu interesează Microbiologia solului.

Clasa Phycomycetes include numeroase specii saprofite (obligate sau facultative), precum şi specii parazite (facultative sau obligate), răspîndite în ape şi soluri umede. Aparatul vegetativ este un sifonoplast prevăzut uneori cu rizoizi care se fixează în substrat. Cele parazite prezintă haustori în formă de balonaşe sau ramificaţii. Reproducerea se realizează pe cale asexuată cînd sporii sînt generaţi în celule mai mari, denumite sporangi, separate de restul talului printr-un septum. In sporange protoplasma se fragmentează rezultînd celule separate care se transformă în spori. După aceea membrana sporangelui se rupe şi sporii se împrăştie, iar prin germinarea lor rezultă noi sifonoplaşti.

Reproducerea sexuată este de două feluri; oogamie tipică la ordinul Oomycetes, care constă în reunirea a doi gametangi morfologic diferiţi (oogon şi anterozoid), ceea ce duce la formarea de oospori; zigogamie, la Zygomycetes, la care se contopesc doi gametangi identici ducînd la formarea de zigospori.

Clasa Phycomiycetes cuprinde mai multe ordine cu specii, în general parazite. Pentru Microbiologia solului prezintă interes ordinul Mucorales format din specii exclusiv terestre şi saprofite. Miceliul (sifonoplastul) este foarte ramificat pe suprafaţa substratului de pe care se

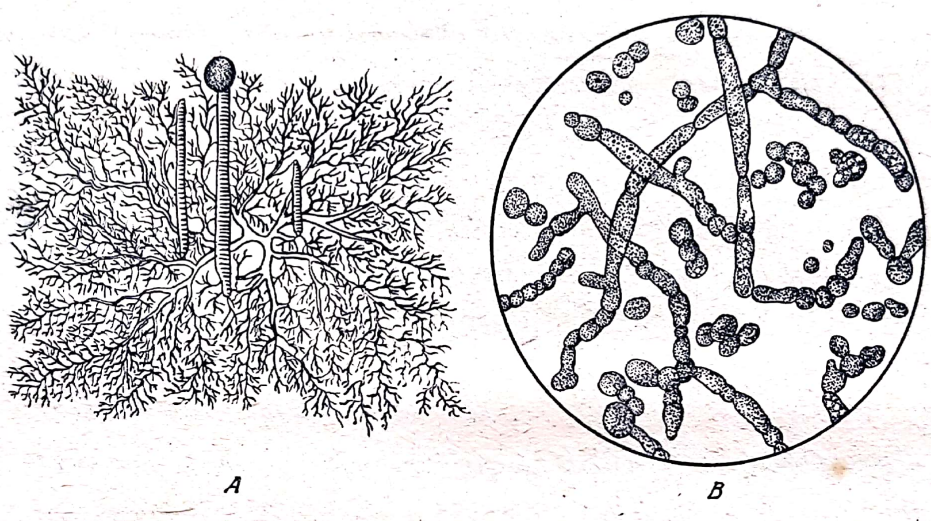


Fig.2o. Mucor mucedo, sporangi cu spori;
A- în cultură aerată; B- în mediu lipsit de oxigen. (După M.V.Fedorov).

ridică ramuri verticale, sporangiofori, pe care se dezvoltă sporangii. Inmulţirea sexuată este o zigogamie. In condiţii de aerobioză, sifonoplastul este neseptat, iar în anaerobioză parţială se pot forma septumuri de formă sferică sau alungită care se pot înmulţi prin înmugurire (fig.2o).

Clasa Ascomycetes. Ciupercile din această clasă sînt mai evoluate. Talul este reprezentat printr-un dermatoplast la Sacharomycetes, iar la alte grupe este alcătuit dintr-un tal filamentos pluricelular. Hifele pot fi izolate sau formează cordoane masive. Celulele din care este format miceliul au o membrană, protoplasmă şi un nucleu haploid. Ascomycetele sînt destul de răspîndite în sol, unde execută procese de descompunere fermentativă a substanţelor organice, iar privitor la unele forme se crede că ar putea fixa azot molecular.

Reproducerea ascomycetelor se realizează pe cale asexuată şi sexuată. Reproducerea asexuată se realizează prin conidii care spre deose-

bire de elementele sexuate se formează în funcţie de condiţiile mediului de nutriţie. Conidiile au forme foarte variate şi în majoritatea cazurilor se formează pe conidiofori. La unele ascomycete, conidioforii pot fi grupaţi formînd picnidii.

Ascomycetele formează şi spori sexuaţi în organe speciale, denumite asce. Formarea ascosporilor nu depinde de condiţiile de mediu, ci de ciclul evolutiv al ciupercii. Reproducerea sexuată este o gametangiogamie.

Clasificarea ascomycetelor. Clasa Ascomoycetes cuprinde două subclase: Protascales şi Euascomycetes.

Din subclasa Protascales, un grup care interesează Microbiologia solului este ordinul Endomycetales, din care fac parte familiile Endomycetaceae şi Saccharomycetaceae. Dintre acestea, microorganismele din familia Endomycetaceae sînt acelea care îndeplinesc procese de descompunere a numeroşi compuşi organici.

Dintre numeroasele ordine ale subclasei Euascomycetes, numai două fac parte din populaţia fungică obişnuită a solului, şi anume ordinele Plectascales şi Sphaeriales.

Ordinul Plectascales prezintă ascele în peritecii complet închise din care ascosporii sînt eliberaţi la maturitate prin crăparea peretelui periteciului şi a ascelor. Inmulţirea asexuată se realizează prin conidii care se dezvoltă pe conidiofori. Cea mai importantă şi răspîndită este familia Aspergillaceae, care cuprinde mucegaiuri saprofite şi numai rareori parazite. Genul Aspergillus cuprinde specii răspîndite în sol şi pe produsele alimentare, în special în stadiul conidian, cu o structură foarte caracteristică. La genul Aspergillus, aparatul conidian este alcătuit dintr-un conidiofor unicelular, simplu, umflat la un capăt, pe care se formează filamente scurte ca nişte butelii numite sterigme, aşezate în capitul, care produc conidii în lanţuri verzi sau negre (fig.21). Aceste ciuperci sînt considerate ca ciuperci pluricelulare, deoarece miceliile lor sînt împărţite prin pereţi transversali în nenumărate celule. Unii reprezentanţi ai acestui gen formează ascospori în peritecii, la alţii se cunoaşte numai stadiul conidian. Genul Penicillium prezintă conidiofori compuşi din filamente aşezate vertical deasupra mediului şi prevăzuţi la capăt cu cîte un ciorchine compact format din ramurile laterale. Ramificaţiile finale, aşa-numitele sterigme în formă de flacon, formează

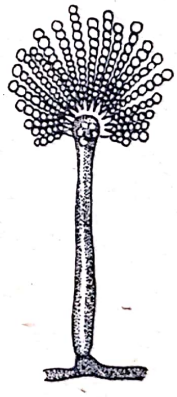


Fig.21. Aspergillus niger, capsulă cu spori. (După M.V. Fedorov).

la capătul lor conidii rotunde, aşezate în lanţuri. Conidioforul seamănă astfel cu o pensulă, de unde şi numele de Penicillium (fig.22). Speciile acestor genuri prezintă importanţă atît pentru sol cît şi în Microbiologia industrială. Astfel, pe lîngă fabricarea penicilinei din Penicillium notatum, în industria brînzeturilor se utilizează Penicillium roqueforti. Aspergillus niger se foloseşte pentru fabricarea acidului citric prin fermentarea zahărului, iar Aspergillus oryzae, care posedă o amilază foarte energică, este utilizat pentru hidroliza amidonului în industria băuturilor spirtoase.

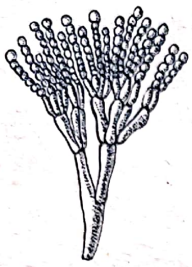


Fig.22. Penicillium, specie din sol. (După M.V. Fedorov).

Clasa Basidiomycetes. Cuprinde cele mai evoluate ciuperci, dintre care o parte sînt saprofite, unele formează micorize la diverse plante, iar altele sînt parazite. Ecologia acestor ciuperci este foarte complexă şi este cunoscută numai la unele specii care formează micorize, precum şi la specii celulozolitice şi ligninolitice. La restul speciilor, ecologia este foarte puţin cunoscută, deoarece basidiomycetele se izolează şi se cultivă greu pe medii sintetice. Incercările de cultură duc la apariţia de forme sterile imposibil de determinat. Din această cauză nu se prea cunoaşte răspîndirea şi frecvenţa lor în sol.

Aparatul vegetativ al basidiomycetelor este un tal pluricelular filamentos sau masiv. Se reproduc prin basidiospori rezultaţi în urma unui proces sexuat care decurge într-o celulă specială, denumită basidie. Sporii se formează în afara acestei celule.

Din cele 2o ooo de specii de basidiomycete, numai două ordine, şi anume, Hymenomycetales şi Gasteromycetales, participă activ la biologia solului. Ambele cuprind numeroase specii simbionte de micoriză.

Din ordinul Hymenomycetales cea mai importantă este familia Polyporaceae şi mai cu seamă genurile Boletus şi Merulius. Astfel, din genul Boletus, speciile Boletus elegans formează micoriză la zadă, B. luteus, la pin şi molid, B. scaber, la mesteacăn, B. versipellis, la plopi. Reprezentanţii genului Merulius şi mai cu seamă specia Merulius lacrymans sînt capabili de a descompune lignina lemnului mort. Pe lemnul atacat de M. lacrymans, cunoscut sub numele de "ciuperca de casă", se formează un miceliu pîslos, la început albicios, apoi cenuşiu şi cafeniu. Lemnul devine sfărîmicios, pe suprafaţa lui formîndu-se organe de fructificare sub formă de cruste galbene-brune din care se eliberează spori cafenii (fig.23). Pentru combaterea acestor efecte distructive, lemnul destinat construcţi-

ilor (pivniţe, duşumele, poduri etc.) trebuie impregnat cu dezinfectanţi (creozot, carbolineum etc.).

In ordinul Gasteromycetales intră numeroase specii de micoriză, dintre care cea mai importantă este Rhizopogon.

Fungi imperfecti. Este un grup eterogen de ciuperci, format din circa 1 300 de genuri cu aproape 25 000 de specii. Miceliul este pluricelular septat. Cuprinde specii la care procesul sexuat nu este cunoscut sau a dispărut în cursul filogenezei. De aceea, o parte din specii, pe măsura descoperirii procesului sexual, sînt trecute în clasele corespunzătoare de ciuperci. Aşa este cazul genurilor Aspergillus şi Penicillium, care erau considerate ca Fungi imperfecti şi actualmente sînt clasificate printre Ascomycetes. Din aceste considerente, clasificaţia fungilor imperfecţi este dificilă şi provizorie. Fungi imperfecţi în prezent sînt grupaţi în trei ordine mari: Hyphomycetales, Melanooniales şi Sphaeropsidales.

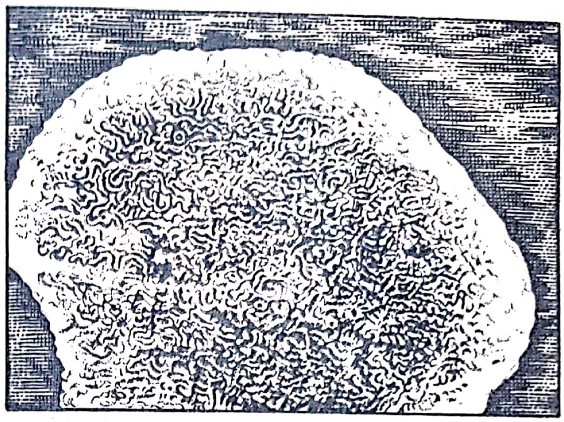


Fig. 23. Merulius lacrymans - organ de fructificare. (După M. V. Fedorov).

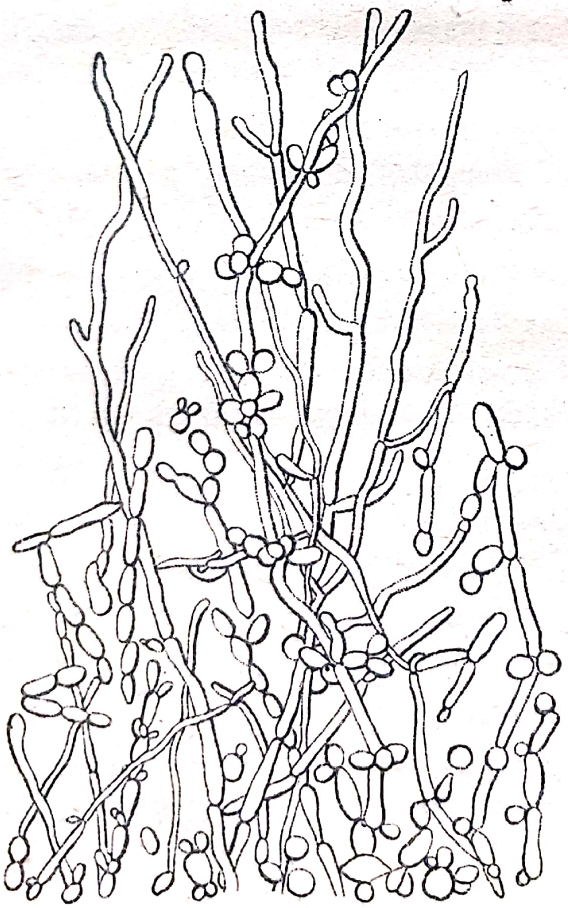


Fig. 24. Monilia candida, aspectul microscopic al hifelor. (După M. V. Fedorov).

Cele mai frecvente forme din sol aparţin ordinului Hiphomycetales şi mai cu seamă familiei Mucedinaceae. Din această familie o parte din genuri participă la unele transformări ale substanţelor organice.

Genul Monilia cuprinde ciuperci ce fac trecerea între ciupercile monocelulare care se înmulţesc prin înmugurire şi cele pluricelulare. Se reproduc prin conidii sferice, ovale

sau piriforme, care apar prin strangulare la extremităţile unor filamente miceliene, sau prin oidii. Pe suprafaţa substratelor bogate în hidraţi de carbon, formează o pojghiţă pufoasă albă. Specia Monilia candida (fig.24) produce o fermentaţie alcoolică foarte lentă a zaharurilor (în timp de 2 săptămîni formează abia 1% alcool), se dezvoltă abundent în medii zaharate, producînd multă masă vie. Genul Botrytis cuprinde numeroase specii saprofite şi unele parazite, care pot ataca plante lipsite de vigoare. Atacă şi distrug resturile organice bogate în zaharuri solubile. Genul Verticillium include specii saprofite care descompun numeroase resturi organice. Unele specii parazite îşi dezvoltă miceliul în vasele conducătoare ale plantelor, producînd veştejirea acestora. Genul Trichoderma cu specia Trichoderma lignorum (fig.25), prin activitatea ei, îmbunătăţeşte simţitor structura solului, deoarece descompune energic celuloza şi lignina, îmbogăţind partea organică coloidală a solului.

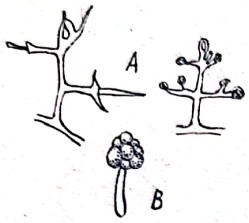


Fig.25. Trichoderma lignorum: A- hife cu conidiofori; B-conidiofor. (După M.V.Fedorov).

Din familia Dematiaceae (ordinul Hyphomycetales), mai importantă este specia Cladosporium herbarum care acţionează ca agent celulozolitic. Poate ataca fibrele de bumbac producînd daune. Genurile Macrosporium şi Alternaria cuprind saprofiţi obişnuiţi, precum şi forme parazite pe unele plante de cultură.

Din familia Tuberculariaceae se poate cita genul Fusarium care cuprinde în majoritate specii saprofite ce descompun numeroase substanţe organice din sol. Puţine specii parazite atacă rădăcina, astupînd vasele conducătoare şi producînd veştejirea plantelor.

Fig.26. Phoma. (După J.Pochon şi H.de Barjac).

Din ordinul Sphaeropsidales numai familia Sphaericidaceae are reprezentanţi importanţi pentru microflora solului. Astfel din genul Phoma (fig.26), cea mai importantă este specia Phoma radicis, capabilă de a fixa azot molecular în simbioză cu rădăcinile plantelor, mai cu seamă din familia Ericaceae.

Ordinul Melanconiales cuprinde specii fitopatogene, care nu participă la procesele de transformare a resturilor organice din sol.

Mycelia sterilis este un grup de ciuperci la care nu se cunoaşte nici un fel de organe de reproducere sexuate sau asexuate. Ca şi în cazul fungilor imperfecţi, pe măsura cunoaşterii biologiei lor, sînt trecute în

grupe definitive. Aşa de exemplu, genul Rhizoctonia a fost recunoscut ca basidiomycetă tipică şi inclusă în această clasă sub numele de genul Corticium.

PARTICULARITĂŢILE BIOCHIMICE ALE CIUPERCILOR DIN SOL

Mucegaiurile se prezintă mult diferenţiate din punct de vedere al compoziţiei lor chimice; această diferenţiere este legată pe de o parte de proprietăţile lor individuale, iar pe de altă parte, de mediul nutritiv pe care se dezvoltă. O deosebită importanţă o prezintă asigurarea mediului cu azot şi microelemente, mai ales cu zinc, a cărui prezenţă stimulează procesele de sinteză a substanţelor celulare. Miceliul este constituit mai ales din hemiceluloze şi proteine, iar membranele celulare, din compuşi de tipul polizaharidelor. Conţinutul în azot al miceliului depinde în primul rînd de compoziţia mediului nutritiv şi de vîrsta culturii. De asemenea, în funcţie de specia de ciupercă şi condiţiile de creştere variază şi cantitatea de carbon în limite destul de largi (45-55%). Compoziţia chimică a conidiilor se diferenţiază mult de compoziţia micelliului, încît o formare intensă a acestora duce la modificări importante în compoziţia chimică a întregii ciuperci. Este un fapt bine stabilit în prezent că membrana celulară a ciupercilor conţine chitină, un polimer al acetilglucozaminei. Cantitatea de chitină depinde de condiţiile în care se cultivă ciupercile, mai ales de pH. De asemenea, membrana celulară a diferitelor ciuperci conţine celuloză. Protoplasma celulelor este foarte bogată în proteine, precum şi alţi compuşi azotoşi, ca aminozaharuri, aminoacizi etc., cantitatea de azot variind între 15 şi 43,7% din greutatea uscată (la Penicillium). In protoplasma celulelor ciupercilor s-au mai găsit şi cantităţi mari de acizi nucleici, precum şi produşii lor de scindare, ca adenina, xantina, hipoxantina etc. Protoplasma celulară mai conţine mari cantităţi de grăsimi care pot fi considerate ca substanţe nutritive de rezervă, fiind formate din gliceride.

Dintre elementele minerale existente, în micelliul ciupercilor se găsesc: K, Mg, Ca, Mn, Na şi P. Conţinutul în săruri minerale depinde însă în mare măsură de compoziţia mediului nutritiv. Pentru creşterea şi dez-

voltarea lor, mucegaiurile utilizează substanţele organice din mediul nutritiv cu randament înalt. Acesta depinde mai ales de concentraţia hidraţilor de carbon din mediu, precum şi de prezenţa zincului şi a altor microelemente care măresc eficacitatea sintezei substanţei celulare de către ciupercă. Ca sursă de carbon, mucegaiurile utilizează diferiţi compuşi organici (hidraţi de carbon, acizi organici, alcooli etc.). Ca sursă de azot ele pot utiliza compuşi organici azotaţi, precum şi săruri minerale (săruri de amoniu şi nitraţi). Majoritatea speciilor de mucegaiuri cresc bine numai pe medii cu azot organic şi în număr mai mic pot utiliza şi forme minerale de azot. Unele din ele, numai cîţiva reprezentanţi ai micorizei, pot utiliza şi azotul molecular din atmosferă.

Procesele oxidative se realizează la mucegaiuri mai ales prin participarea oxigenului molecular. De aceea, o dezvoltare bună a lor are loc numai în condiţii aerobe, mucegaiurile fiind fie aerobe obligatorii, fie aerobe facultative. Unele din ele însă sînt capabile să scindeze zaharurile şi în condiţii anaerobe, însă intensitatea procesului este foarte scăzută. Datorită metabolismului lor aerob, mucegaiurile pot utiliza cu eficacitate substanţele nutritive ale substratului, ceea ce le permite să supravieţuiască în condiţii naturale în care substanţele nutritive se găsesc în cantităţi limitate. Procesul de oxidare a hidraţilor de carbon poate duce la rezultate finale diferite în funcţie de condiţiile în care se găsesc celulele miceliului de ciupercă. In cazul prezenţei în mediu a tuturor substanţelor nutritive, produsele intermediare ale scindării hidraţilor de carbon sînt utilizate pentru sinteza substanţelor celulare. In cazul cînd unele din aceste substanţe nutritive lipsesc, în celulă se acumulează produşi de oxidare incompletă, cum este acidul fumaric. Diferitele microelemente influenţează intensitatea proceselor de sinteză în culturile de ciuperci, cel mai important fiind zincul. Ele intră ca elemente indispensabile în compoziţia enzimelor sau au funcţii analoge cu enzimele (se ştie că o serie de fermenţi sînt combinaţii de proteine cu anumite metale, fără de care nu se pot îndeplini funcţii catalitice).

RASPÎNDIREA CIUPERCILOR ŞI IMPORTANŢA LOR ÎN BIOLOGIA SOLULUI

Majoritatea ciupercilor se dezvoltă în orizonturi superioare ale solului, la adîncimea de 4-5 cm, cum sînt speciile de Aspergillus, Penicillium, Mucor, care se găsesc din abundenţă în litiera solului de pădure. Unele

specii, ca Trichoderma, se dezvoltă în stratele mai adînci ale solului, chiar sub 1 m adîncime. In general, frecvenţa ciupercilor scade sub 2o cm adîncime din cauza dispariţiei progresive a aerului şi substanţelor nutritive. Rolul ciupercilor în sol depinde de proprietăţile fiziologice, cum sînt intensitatea şi viteza dezvoltării vegetative legate de particularităţile sporulării, de longevitatea miceliului şi organelor de reproducere, de existenţa formelor rezistente, de metabolism şi de activitatea antibiotică. Asupra structurii solului, acţionează în special ciupercile filamentoase (Cladosporium, Penicillium, Trichoderma). După J.P. M a r t i n şi S.A. W a k s m a n (194o), la suprafaţa hifelor aderă particule fine de sol formîndu-se agregate poroase, relativ stabile. După F.Y. G l e t z e r (194o), la aceasta se adaugă acţiunea bacteriilor care, după atacul hifelor şi autoliza lor, eliberează substanţe mucilaginoase de culoare închisă care agregă particulele de argilă formînd agregate argilo-humice. După E.J. R u s s e l l (195o), acizii organici (citric, tartric, oxalic), eliberaţi de unele ciuperci, pot solubiliza fierul şi aluminiul, transportîndu-le în orizontul B al solului, ceea ce uşurează podzolirea. In cursul descompunerii resturilor organice din sol, se pare că prima fază este executată de ciuperci, după care bacteriile atacă miceliul fungic. Această situaţie este caracteristică în solurile acide şi afînate, în timp ce solurile neutre, alcaline favorizează dezvoltarea bacteriilor. In proteoliza fungică se degajă mai mult azot decît în proteoliza bacteriană, deoarece cerinţele energetice ale ciupercilor sînt cu mult mai mari decît cerinţele faţă de azot, în comparaţie cu bacteriile, iar excesul de azot se eliberează sub formă de amoniac. De aceea şi cantitatea de CO_2 eliberată de ciuperci este mai mare decît cea degajată de bacterii în unul şi acelaşi sol. Activitatea biochimică a ciupercilor este deosebit de importantă în celulozoliza şi ligninoliza resturilor vegetale. Participarea ciupercilor în celulozoliză a fost demonstrată în lucrările lui S.A. Waksman şi R.L. Starkey (1924), care constată că adăugarea de 1% celuloză în sol în 2 săptămîni sporeşte frecvenţa ciupercilor de la 5o ooo pînă la 1 25o ooo. Cele mai active ciuperci celulozolitice sînt Basidiomycete (genuri, ca Polyporus, Merulius, Coniophora, Pleurotus etc.). Dintre Ascomycetes sînt ligninolitice genuri, ca: Hypoxilon, Xylaria, Helotium, iar dintre Fungi imperfecti, genuri ca: Chaetomium, Trichoderma, Cladosporium şi Fusarium. In solurile acide, microflora celulozolitică este compusă în special din specii de Penicillium şi mai cu seamă de Trichoderma, care este activă şi la pH=2-2,5. Ligno-

liza fungică este atribuită în cea mai mare parte ciupercilor filamentoase sau basidiomycetelor superioare. S-a constatat (M.E.K. H e n d e r s o n şi V.C. F a r m e n - 1955) că numeroase genuri de fungi imperfecţi pot utiliza ca sursă de carbon compuşi fenolici asemănători structural cu părţi din molecula de lignină. Dintre basidiomycetele superioare, Psalliota campestris, Marasmius peronatus preferă lignina în locul polizaharidelor. Ciupercile prin marea lor capacitate de creştere şi multiplicare asimilează cantităţi importante de azot mineral din sol. Astfel, pentru 3o de părţi de celuloză descompusă, din care în protoplasmă se asimilează 3o-4o% din carbon, se asimilează şi o parte de azot mineral, care în acest fel este temporar imobilizat. Apoi, prin mineralizare, acest azot va fi redat treptat plantelor.

Din toate acestea reiese rolul important şi multilateral al ciupercilor în biologia solurilor. Prin funcţia lor antibiotică condiţionează interrelaţiile între microorganismele din sol, precum şi între acestea şi plantele superioare. Prin conţinutul lor în carbon şi azot şi prin acţiunea lor fiziologică şi biochimică, condiţionează proprietăţile humusului şi prin aceasta proprietăţile generale ale solului.

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul V

ALGELE DIN SOL

Algele existente în sol aparţin la patru phyllumuri: Cyanophyta, Bacillariophyta, Chlorophyta şi Heterocontae.

Phyllum Cyanophyta (Schizophyceae, Cyanoschizophyceae)

Sînt plante unicelulare sau grupate în colonii alcătuite din indivizi de aceeaşi vîrstă, numite coenobii. Colonia îşi poate divide celulele într-o singură direcţie, devenind un filament, în două direcţii, devenind o membrană, sau în trei direcţii, formînd un corp masiv. Aceste plante inferioare, datorită faptului că se înmulţesc prin diviziune se numesc Schizophyceae şi cuprind organisme vegetale care nu au în celulele lor o diferenţiere clară în citoplasmă, nucleu şi cromatofori. Totuşi, în privinţa dispoziţiei pigmenţilor asimilatori, C a l v i n şi L i n c h (1951), D r e w s şi N i k l o w i t z (1956-1957) şi G e i t l e r (1958) (citaţi de M. C h a d e f a u d, 1960) susţin că aceştia formează complexe asociate în structuri asemănătoare cu granele, formate din lamele paralele. Aceste formaţii sînt legate de o substanţă plastidială, care manifestă tendinţa de a se separa de restul cromoplasmei. Celula algelor este formată dintr-o membrană dublă şi un conţinut celular. Membrana internă este o peliculă subţire de natură pectică şi celulozică, iar cea externă, mai groasă, este alcătuită din substanţe pectice mucilaginoase care se pot umfla foarte mult în prezenţa apei. Această pătură gelatinoasă poate forma o teacă comună în jurul cenobiului. In protoplast se deosebesc două zone, una externă - cromoplasma, de obicei colorată, şi

una internă, necolorată. In zona colorată predomină pigmentul ficocianina care dă culoarea albastră acestei zone, respectiv întregii plante. A doua zonă, centroplasma, este lipsită de pigmenţi, dar predomină anumite granulaţii cromatice, considerate ca un nucleu în stare difuză. Schizophyceae-le sînt autotrofe. Produsul de asimilaţie nu este amidonul, ci glicogenul şi glicoproteidele. Algele albastre sînt mult răspîndite pe toată suprafaţa pămîntului, în locuri umede, în ape stătătoare, în ape termale, suportînd temperaturi pînă la +87°C (Phormidium laminosum). Cyanophyceae-le sînt răspîndite mai cu seamă în apele dulci, bogate în substanţe organice; în ape marine, frecvenţa este mai scăzută. Algele albastre sînt foarte răspîndite atît în sol cît mai ales la suprafaţa lui. Avînd o mare adaptabilitate, Cyanophyceae-le populează şi soluri foarte sărace, ca solurile de pustiuri şi semipustiuri şi, de asemenea, sînt primele organisme care populează roca dezagregată, la începutul procesului de solificare. Alături de ele se dezvoltă variate bacterii, printre care un loc deosebit îl ocupă bacteriile fixatoare de azot molecular, mai cu seamă în mucilagiile secretate de membranele celulare ale acestor alge.

Cyanophyceae-le cuprind trei ordine: Chroococcales, Chamaesiphonales şi Hormogonales. Din aceste ordine se vor cita cîteva familii cu genurile cele mai importante în biologia solului.

Ordinul Chroococcales, familia Chroococcaceae. Celulele sînt izolate şi se înmulţesc prin diviziune. Trăiesc pe stînci sau pe ziduri umede şi se prezintă ca o masă gelatinoasă. Dintre genurile principale amintim Gloeocapsa (fig.27), la care celulele izolate sînt înconjurate de o membrană mucilaginoasă groasă. In cursul diviziunii se obţin colonii sferice sau ovale, care au atîtea tece în jurul fiecărui individ, de cîte ori s-a divizat colonia, mai puţin una, deoarece celulele-fiice după diviziune nu se separă. Trăieşte pe suprafaţa umedă a solului. Genul Chroococcus (fig.28) cuprinde alge monocelulare formate din indivizi ovali acoperiţi cu o membrană groasă în straturi, care se dezvoltă intens pe solul umed, acoperindu-l cu o peliculă neagră-albăstruie.

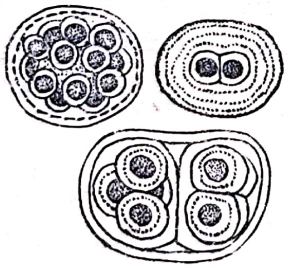


Fig.27. Gloeocapsa varia - dezvoltarea coloniei cu sistemul de învelişuri. (După M.V.Fedorov).

Fig.28. Chroococcus turgidus - celule separate în capsule mucilaginoase. (După M.V.Fedorov).

Ordinul Hormogonales cuprinde plante sub formă de filamente care se înmulţesc prin hormogonii, adică în filament se formează fragmente mobile care ies din teacă şi divizîndu-se dau naştere la filamente noi. Familia Oscillatoriaceae, cu genul Oscillatoria (fig.29), se prezintă ca

Fig.29.Oscillatoria, aspectul extern al filamentului.(După M.V. Fedorov).

Fig.30.Phormidium - specii din sol. (După M.V.Fedorov).

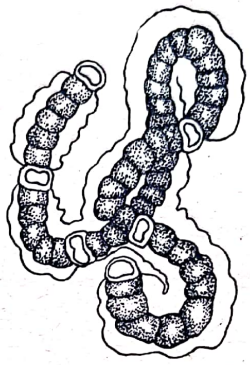


Fig.31.Nostoc commune.(După M.V.Fedorov).

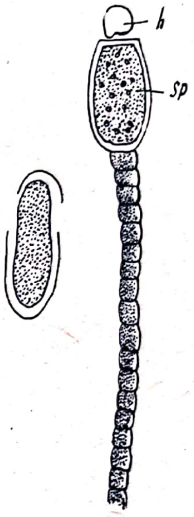


Fig.32. Anabaena h - heterocis, sp-spor, în stînga - germinarea sporului. (După M.V.Fedorov).

filamente neramificate formate din mai mulţi indivizi; toate celulele sînt asemănătoare ca dimensiuni şi sînt mai late decît lungi. Se înmulţesc prin hormogonii. Genul Lyngbia, algă asemănătoare cu Oscillatoria, se deosebeşte însă prin faptul că filamentele ei sînt incluse într-o teacă groasă, mucilaginoasă. Genul Phormidium (fig.30) prezintă teci ale filamentelor ce pot adera formînd pelicula sau pot rămîne izolate.Celulele filamentelor sînt dreptunghiulare, iar cele de la capete sînt rotunde şi mai mari. Speciile genului Phormidium sînt răspîndite mai cu seamă în ape dulci, iar unele (Ph.autumnale) pot intra în compoziţia florei solurilor umede. Familia Nostocaceae este reprezentată tipic prin genul Nostoc (fig.31). Se prezintă sub forma unui şir de celule rotunjite care formează un filament întrerupt în unele locuri de celule mari, incolore, numite heterociste. Mai multe filamente se găsesc înglobate într-o masă gelatinoasă formată prin contopirea membranelor gelificate.Speciile genului Nostoc sînt răspîndite în soluri şi mai cu seamă în cîmpurile de orez. Importanţa practică a unor specii de Nostoc constă în capacitatea lor de a fixa azot molecular, aşa cum este, de exemplu, specia

Nostoc muscorum. Genul Anabaena (fig. 32) se aseamănă cu Nostoc, dar filamentele acestei alge se dezvoltă într-un singur sens. Pe lîngă înmulţirea vegetativă, această algă formează şi spori care sînt foarte rezistenţi la uscăciune. De asemenea, este foarte răspîndită pe diferite soluri, iar specia Anabaena variabilis poate fixa azot molecular. Familia Rivulariaceae este reprezentată prin genul Rivularia. Filamentele care formează colonia sînt grupate în evantai şi sînt incluse într-o masă gelatinoasă (fig. 33). Cuprinde specii răspîndite în apele dulci şi marine, precum şi pe suprafaţa solurilor umede.

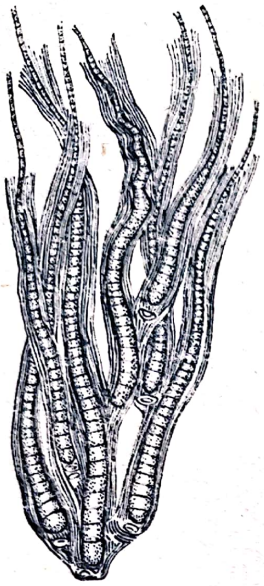


Fig. 33. Rivularia - cîteva filamente dintr-o colonie. (După M. V. Fedorov).

Phyllum Bacillariophyta (Diatomee)

Acest grup de plante cuprinde organisme unicelulare izolate sau în colonii. Unele specii sînt fixate de suport printr-o masă sau pedicel gelatinos, altele sînt învelite în tuburi gelatinoase sau înglobate într-o substanţă gelatinoasă. Cele mai multe diatomee însă trăiesc libere şi izolate. Diatomeele trăiesc în mediu umed sau acvatic. Forma celulelor este foarte variată, însă se poate reduce la două tipuri: cu simetrie bilaterală - clasa Pennatae şi cu simetrie biletarelă - clasa Centricae.

Foarte caracteristică pentru diatomee este membrana celulară de natură pectică impregnată cu bioxid de siliciu, alcătuind o carapace în jurul conţinutului celular. La exterior carapacea este acoperită cu un strat gelatinos, secretat de protoplasmă. Carapacea, asemănătoare cu o cutie, este compusă din două valve: cea superioară, epiteca şi cea inferioară, hipoteca. In interiorul celulei se găseşte protoplastul care conţine cromatofori bruni şi o vacuolă mare cu suc celular. In centrul celulei există o punte protoplasmatică cu nucleu, iar în sucul celular se găsesc picături de grăsime. In cromatofori se află clorofila legată nestabil, precum şi un pigment supranumerar brun, diatomina, motiv pentru care diatome-

ele au culoarea brună-gălbuie. Pe valva superioară se găseşte un şanţ median longitudinal, numit rafeu, prin care se face schimbul cu mediul exterior. Diatomeele se înmulţesc asexuat şi sexuat. In condiţii favorabile, aceste alge se multiplică prin diviziune directă precedată de diviziunea nucleului. Cele două celule-fiice capătă imediat cîte o valvă care intră întotdeauna în prima. In urma acestor diviziuni, diatomeele devin tot mai mici. Cînd dimensiunea celulelor-fiice ajunge la jumătate din mărimea iniţială, carapacea silicioasă se îndepărtează, conţinutul protoplasmatic creşte pînă ajunge la mărimea iniţială, apoi îşi secretă teaca înconjurătoare. Acest mod de refacere se numeşte regenerare prin auxospori. Inmulţirea sexuată se face prin copularea protoplaştilor (clasa Pennatae), sau prin formare de gameţi prevăzuţi cu cîte doi cili (clasa Cetricae).

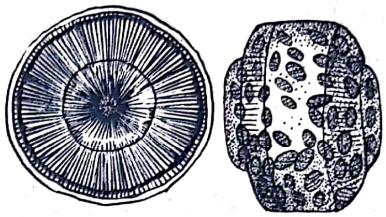


Fig. 34. Cyclotella : A- aspectul general dinspre valvă; B- acelaşi aspect dinspre centură. (După M.V.Fedorov).

Un reprezentant tipic al clasei Centricae este Cyclotella (fig. 34) care se prezintă sub formă de celule plate, iar conturul valvei este sinuos.

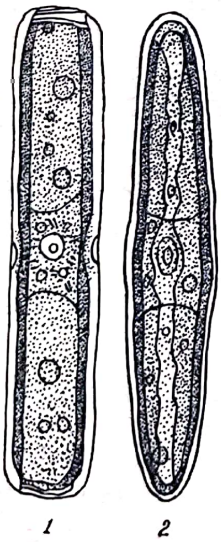


Fig. 35. Pinnularia viridis: 1- aspectul dinspre centură; 2- aspectul dinspre valvă. (După M.V.Fedorov).

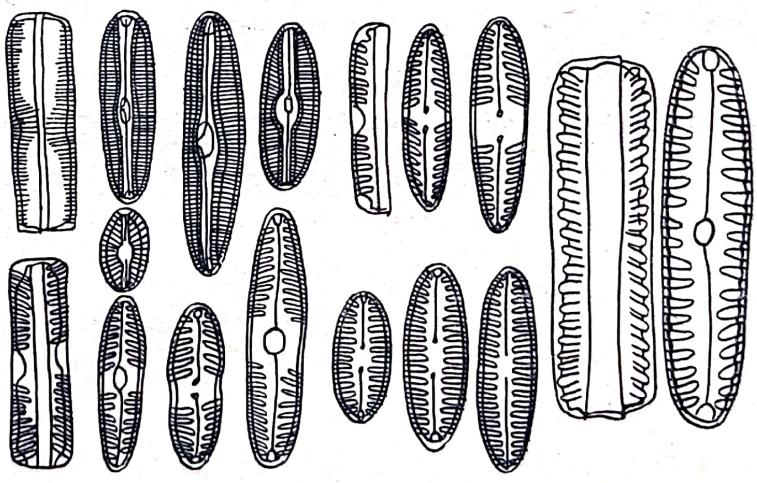


Fig. 36. Navicula - diferite specii care se întîlnesc în sol. (După M.V.Fedorov).

Din clasa Pennatae, menţionăm, trei genuri care se întîlnesc destul de frecvent în compoziţia microflorei solului. Genul Pinnularia (fig.35) este foarte frecvent şi uşor de găsit în mîlul apelor stătătoare şi locuri umede; are formă alungită mai mult sau mai puţin dreptunghiulară. Valvele acestei alge au o sudură formată dintr-un canal dublu, închis spre interior şi deschis în afară. In timpul pulsării protoplasmei se produce o frecare a sudurii cu apa, ceea ce duce la înaintarea celulei. Genul Navicula (fig.36) cuprinde diatomee în formă de suveică şi trăieşte în acelaşi mediu ca şi Pinnularia, avînd ca şi aceasta o sudură în mijlocul valvei. Genul Nitzschia are valvele lipsite de sudură, dar prezintă în mod distinct ornamentaţii foarte fine pe ele.

Phyllum Chlorophita

Algele verzi alcătuiesc una din cele mai mari grupări de alge şi cuprinde organisme vegetale microscopice unicelulare sau pluricelulare. Talul este vizibil cu ochiul liber. Sînt foarte variate ca formă, majoritatea trăind în apele dulci şi în apele marine. Unele s-au adaptat la viaţa terestră fiind destul de răspîndite în sol.

Celula unei alge verzi monocelulare prezintă la exterior o membrană de natură celulozică cu tendinţă de gelificare, alteori este de natură pectică şi se poate impregna cu carbonat de calciu. Protoplastul algelor verzi este format din citoplasmă, nucleu, cromatofori, substanţe nutritive de rezervă şi vacuole. Cromatoforii sînt verzi datorită prezenţei clorofilei şi a pigmenţilor carotenoizi. Ca formă cromatoforii sînt diferiţi: cilindrici, lamelari, în formă de clopot, spiralaţi sau în formă de stea. O caracteristică a protoplasmei algelor verzi este capacitatea ei de mişcare. Nucleul poate fi simplu sau multiplu şi în unele cazuri nu se deosebeşte de structura nucleului plantelor superioare. Unele alge verzi posedă flageli cu ajutorul cărora se pot deplasa. In celule există două tipuri de vacuole: simple şi contractile. Inmulţirea algelor verzi este asexuată prin zoospori şi sexuată prin zigospori. Algele verzi sînt destul de răspîndite pe suprafaţa solului. Dintre toate algele verzi cu viaţă terestră, vor fi descrise cîteva forme mai frecvent întîlnite în microflora solului,

Familia Chlamydomonadinaceae, are ca gen principal Chlamydomonas. Acesta cuprinde alge mobile, monocelulare, care se pot înmulţi pe cale sexuată şi asexuată. La capătul anterior al acestei alge se găsesc doi flageli. In protoplasmă există un nucleu şi un cromatofor în formă de cupă (fig.37).Aceste alge se dezvoltă mai ales primăvara, pe solurile umede argiloase imprimînd solului o culoare verde.

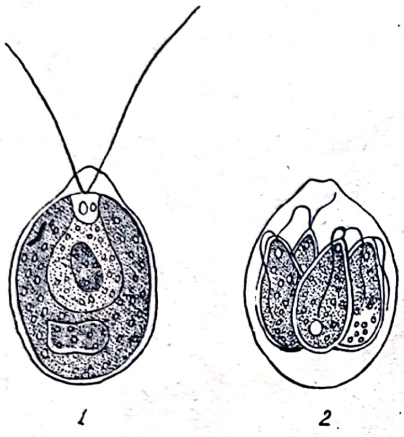


Fig.37.Chlamydomonas:
1= individ vegetativ;
2= înmulţire prin divi - ziune în 4 celule. (După M.V.Fedorov).

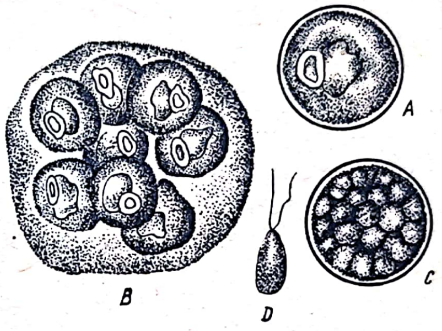


Fig.38. Chlorococcum:
A- celulă matură; B- grup de celule în mucus; C- formarea zoosporilor; D-zoospori. (După M.V.Fedorov).

Familia Chlorococcaceae este reprezentată prin genul Chlorococcum (fig.38). Acest gen cuprinde alge monocelulare de formă sferică avînd un cromatofor în formă de cupă. Formele vegetative sînt imobile dar gameţii şi zoosporii formaţi sînt mobili. Această algă este răspîndită în apă, pe coaja arborilor cît şi pe solurile umede.

Familia Scenedesmaceae, cuprinde genurile Chlorella şi Scenedesmus . Genul Chlorella, întîlnit frecvent în microflora solului, este o algă monocelulară cu cromatofori în formă de balonaş, care se înmulţesc probabil numai pe cale asexuată (fig.39). Genul Scenedesmus (fig.4o) trăieşte în colonie cu patru celule scurte şi late. Celulele marginale formează uneori ghimpi subţiri. Se înmulţeşte, ca şi Chlorella,pe cale asexuată. Este răspîndit atît în apă cît şi pe suprafaţa solului.

Familia Ulothrichaceae este reprezentată prin genul Ulothrix (fig.41), alcătuit din alge pluricelulare, filamentoase, uneori fixate pe substrat. Celulele sînt mononucleate, iar cromatoforul lamelar.Pe cromatofor se găsesc pirenoizi. Zoosporii, care reproduc asexuat alga,

sînt prevăzuţi cu patru flageli care se fixează de substrat şi germinînd dau naştere la un filament nou de algă. In afară de această înmulţire, Ulotrhix se înmulţeşte şi pe cale sexuată cu o formă tipică de izogamie. Această algă este mult răspîndită pe suprafaţa solului umed.

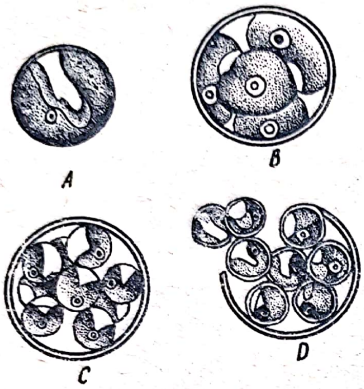


Fig.39. Chlorella: A- celulă matură; B, C- formarea autospo - rilor; D- ieşirea autosporilor din membrana celulei mamă. (După M.V.Fedorov).

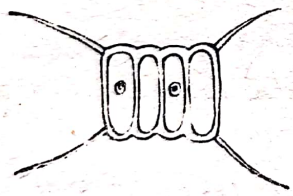


Fig. 4o. Scenedesmus - colonie formată din 4 celule. (După M.V. Fedorov).

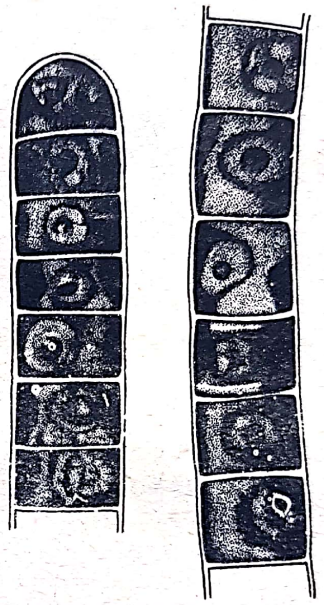


Fig.41. Ulothrix tenuissima. (După M.V. Fedorov).

Familia Vaucheriaceae cuprinde genul Vaucheria (fig.42). Aparatul vegetativ este un tal filamentos neseptat format dintr-o masă protoplasmatică pluricelulară acoperită de o membrană fină. Septumuri apar numai la maturitate la extremităţile talului, separînd organe de reproducere asexuată - zoosporangii. La genul Vaucheria, aparatul vegetativ este filamentos, neramificat, tubulos, de circa 1 mm diametru şi 5o cm lungime.

El se fixează de substrat printr-o porţiune rizoidală incoloră, în timp ce restul filamentului conţine cloroplaste lenticulare de culoare verde. La acest gen există şi o reproducere sexuată. Oosfera formată în urma

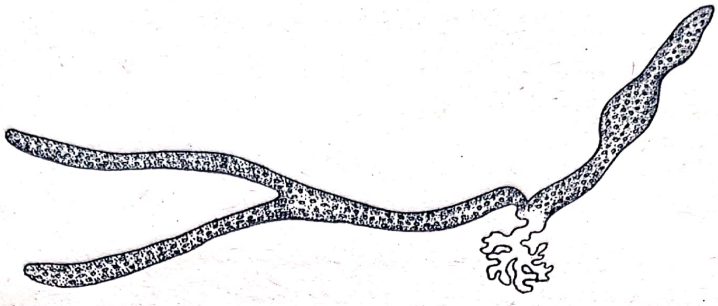


Fig.42. Vaucheria - aspectul general al filamentului. (După M.V.Fedorov).

contopirii celulelor sexuale mascule şi femele germinează numai după o perioadă de repaus. Se dezvoltă în bazinele de apă şi pe suprafaţa solurilor umede şi umbrite.

Phyllum Heterocontae (Heteroflagellate)

Poziţia acestei clase este mult discutată fiind considerată ca un grup de alge care se ataşează la algele verzi. Cuprinde alge caracterizate prin celule gigante, filamentoase sau tubuloase, plurinucleate. Reprezentantul tipic al acestei clase este Botrydium granulatum (fig.43). Această algă este alcătuită dintr-o celulă mare, vizibilă cu ochiul liber, care conţine numeroşi nuclei (structură acelulară) şi c r o m a t o f o r i galbeni-verzui. Are forma unui balonaş prelungit într-o parte, de culoare verde, cu ramificaţii rizoidale incolore cu care se înfige în mîlul lacurilor şi bălţilor secate. Cînd Botrydium este udat de ploaie, din vezica verde se formează un număr mare de zoospori

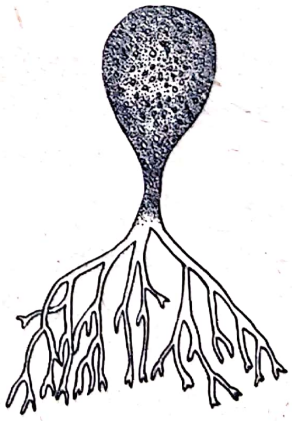


Fig.43. Botrydium - aspectul general. (După M.V.Fedorov).

care dau naştere la celule noi. In condiţii de uscăciune, conţinutul părţii aeriene trece în rizoizi şi formează o serie de chisturi acoperite cu o membrană groasă care are o mare rezistenţă la uscăciune. La umezeală, chisturile se transformă din nou într-o celulă obişnuită.

RĂSPÎNDIREA ŞI ROLUL ALGELOR ÎN SOL

Importanţa algelor din sol este mai mică decît a celorlalte grupe de microorganisme (bacterii şi ciuperci), dar prin biomasa lor, care poate fi destul de importantă, ele condiţionează în sol numeroase procese biologice. In sol algele sînt răspîndite atît la suprafaţă cît şi în profunzime. După datele cercetătorilor, numărul algelor în stratele superficiale ale solului este de 100 000, ajungînd uneori pînă la 3 milioane într-un gram de sol. Algele care trăiesc pînă la cîţiva centimetri adîncime se nutresc autotrof acumulînd o cantitate importantă de substanţă organică care poate fi uşor mineralizată de către alte microorganisme heterotrofe (bacterii, ciuperci). Există şi alge care trăiesc la adîncime - după unele date pînă la un metru - (G.T.M o o r e şi J.L. K a r r e r, 1919) - care au un mod de nutriţie heterotrof. Activitatea chimică a algelor din sol este destul de variată. Substanţa organică sintetizată de către ele poate fi mineralizată sau poate fi humificată. In mod direct s-a stabilit capacitatea unor alge albastre de a fixa azot atmosferic. Aşa sînt Nostoc muscorum şi Anabaena variabilis. Cantitatea de azot molecular fixat de algele albastre este destul de mică (Nostoc muscorum fixează abia 10 mg azot pe 100 ml mediu în 1,5 luni). S-a constatat că procesul de fixare a azotului molecular este stimulat, dacă în sol se găsesc cantităţi mici de molibden. In afară de aceasta, toate algele sînt participanţi importanţi la dinamica azotului din sol. Astfel, în mucusul unor alge, ca Rivularia şi altele, se dezvoltă simbiotic bacterii fixatoare de azot, ca Azotobacter şi Clostridium. Aportul de azot rezultat din această simbioză este însă neînsemnat. Fixarea bacteriană a azotului molecular este importantă numai cînd Azotobacter şi Clostridium utilizează ca sursă de carbon resturile organice ale algelor. Cantitatea de azot molecular fixată pe baza acestui material energetic, după cercetările lui S.P. Kostîcev, este de 20-40 kg la hectar, ceea ce reprezintă numai o par-

te din azotul molecular fixat de aceste bacterii, restul fiind fixat pe baza altor surse de carbon organic din sol.

Un alt aspect al participării algelor la bilanţul azotului din sol este imobilizarea temporară a compuşilor minerali ai azotului în substanţa organică sintetizată de alge. Această fixare poate duce la o insuficienţă momentană de azot pentru plantele cultivate, ceea ce în solurile sărace în azot se resimte şi asupra recoltei. Această imobilizare temporară are şi o importanţă pozitivă mai cu seamă în solurile nisipoase, din care combinaţiile minerale ale azotului pot fi uşor levigate. Aceste rezerve sînt eliberate prin mineralizarea resturilor organice ale algelor, redevenind accesibile plantelor superioare. Prezenţa algelor în sol activează şi pe alte căi fixarea azotului molecular. In primul rînd, după W e r n e r, ele secretă în sol substanţe din grupa bios, care stimulează fiziologic activitatea de fixare a azotului de către Azotobacter. Pe de altă parte, algele eliberează mediul de compuşii azotoşi fixaţi de către bacterii, ceea ce stimulează indirect activitatea de fixare a azotului molecular de către bacterii. Această interrelaţie este importantă în cîmpurile de orez, de exemplu, în India, unde orezul se cultivă timp de secole fără administrare de îngrăşăminte azotoase.

O altă influenţă importantă a algelor din sol este îmbogăţirea acestuia cu oxigen rezultat din fotosinteză. Acest fapt este deosebit de important în solurile mlăştinoase, deoarece creează condiţii favorabile dezvoltării unor plante ale căror rădăcini nu prezintă adaptări la viaţa anaerobă. Totodată, acest oxigen favorizează dezvoltarea microorganismelor aerobe din sol, ceea ce duce la intensificarea proceselor de mineralizare. Datorită acestor activităţi, precum şi datorită biomasei care poate intra în procesele de humificare, algele îndeplinesc un rol important în procesele de pedogeneză. Algele albastre sînt primele organisme care populează suprafaţa stîncilor goale, iar în roca dezagregată creează primele premise ale dezvoltării fertilităţii, şi anume, acumularea de rezerve nutritive sub formă de substanţă organică mineralizabilă.

Algele mai au un rol de seamă în solubilizarea compuşilor insolubili ai anumitor elemente (Ca^{++}) şi în precipitarea altor elemente, în special a fierului, ceea ce duce la formarea de limonită. In concluzie, reiese că activitatea biochimică şi fiziologică a algelor din sol influenţează simţitor asupra multor procese executate de către alte microorganisme.

Capitolul VI

PROTOZOARELE DIN SOL (PHYLLUM PROTOZOA)

In sol, în afară de reprezentanţii monocelulari care aparţin regnului vegetal, se mai găsesc şi microorganisme monocelulare care aparţin regnului animal şi care poartă numele generic de protozoare. Acestea sînt organisme animale unicelulare la care se cunoaşte un ciclu evolutiv bine stabilit şi care reprezintă organisme complete şi independente. Celula unui protozoar se compune din protoplasmă, în care se găsesc diferite incluziuni granulare, condriozomii, precum şi diferite substanţe nutritive şi de rezervă. Tot în protoplasmă se găsesc totdeauna unul sau mai mulţi nuclei cu forme şi structuri diferite. Protoplasma protozoarelor, cu o consistenţă semilichidă, are o reacţie aproape neutră. Coeficientul de viscozitate este ceva mai mare decît al unei soluţii de albumină (3% albumină are viscozitatea egală cu 1,2, iar protoplasma de protozoare, 1,9 la + 18°C). In cazul cînd temperatura scade, viscozitatea creşte. Faza dispersantă în sistemul coloidal al protoplasmei este apa, care conţine în diferite grade de dispersiune molecule de substanţe proteice. Structura submicroscopică a protoplasmei protozoarelor este puţin cunoscută. Se ştie doar că particulele coloidale care alcătuiesc structura de bază a protoplasmei au o formă de bastonaş şi nu sferică, cum se credea. Protoplasma protozoarelor este dotată cu o permeabilitate selectivă, proprietate care rezultă din însuşirile ei coloidale submicroscopice, adică ale macromoleculelor proteice. Structura condriozomilor rezultă din legătura substanţelor proteice cu lipoidele, ceea ce are o mare importanţă în viaţa celulei şi în activitatea sa fiziologică. Ca substanţe de rezervă descoperite în celulele de protozoare se pot cita: amidonul, paraamilonul, glicogenul, leucozina, grăsimi şi substanţe proteice de rezervă, cum este volutina. Toate aceste substanţe de rezervă variază mult în funcţie de condiţiile în care are loc dezvoltarea protozoarelor.

După o creştere pînă la o anumită limită, celula de protozoare trece la procesul de înmulţire. Cel mai frecvent tip de multiplicare este modul de înmulţire asexuat, în care celula se împarte în două părţi aproximativ egale şi cînd apar două celule-fiice identice (fig.44). La protozoare se mai observă, de asemenea, şi o înmulţire sexuată, care are loc după un număr de diviziuni simple. Procesul sexuat poate avea loc atît prin conjugare cît şi prin copulare. Din contopirea (copularea) gameţilor iau naştere zigoţii, din care se pot forma doi indivizi tipici. Pentru apărarea zigotului în condiţii nefavorabile, iau naştere zigochisturi care servesc la protecţia de lungă durată a zigotului. In interiorul zigochisturilor se formează sporochisturi (în cazul sporozoarelor), care reprezintă un mijloc suplimentar de apărare. In condiţii nefavorabile, protozoarele pot secreta în jurul corpului lor o membrană specială şi pot trece în chisturi de repaus. Celula îşi resoarbe sau îşi detaşează organitele de mişcare, corpul se rotunjeşte, incluziunile alimentare se elimină, citoplasma se deshidratează şi se condensează foarte mult, secretînd la exterior o substanţă care se întăreşte şi devine un înveliş rezistent. La adăpostul chistului, care îl izolează aproape complet de lumea exterioară, protozoarul trece în stare de repaus prelungit şi poate supravieţui timp îndelungat în condiţii nefavorabile. Dintre factorii care condiţionează încistarea protozoarelor din sol se pot cita: modificările de temperatură, o cantitate insuficientă de substanţe nutritive, concentraţia sărurilor solubile, conţinutul de umezeală şi de oxigen, acumularea în mediu a unor produşi de metabolism nocivi, precum şi alţi factori nefavorabili. La revenirea condiţiilor favorabile, chisturile germinează sub influenţa substanţelor organice de pe substrat şi protozoarele ies din ele sub formă de indivizi obişnuiţi

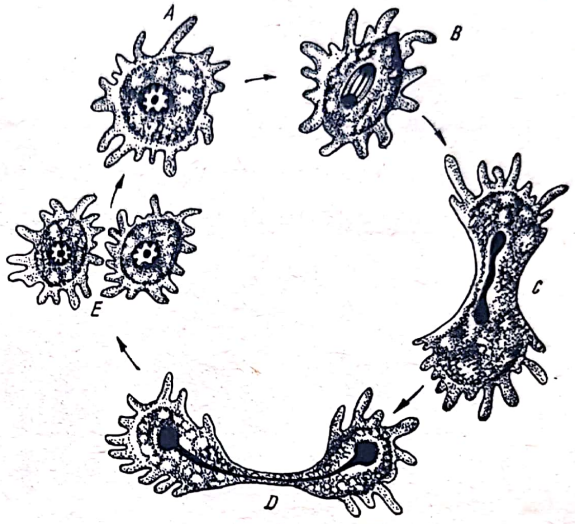


Fig.44. Ciclul înmulţirii la Amoeba polipodia: A, B, C, D, E - faze succesive. (După Dogheli).

REPREZENTANŢII PRINCIPALI AI PROTOZOARELOR DIN SOL

In sol, protozoarele sînt reprezentate printr-un număr mare de grupe. Phyllum Protozoa cuprinde patru clase: Sarcodina, Mastigophora (Flagellata), Infusoria (Ciliata), Sporozoa.

Dintre acestea, numai primele trei clase sînt rîspîndite în sol, clasa Sporozoa cuprinzînd numai forme parazite inexistente în sol.

I. Clasa Sarcodina se caracterizează prin emitere de pseudopode ca organite de deplasare. Se subîmparte în trei subclase: Rhizopoda, Heliozoa şi Radiolaria. Dintre acestea numai reprezentanţii subclasei Rhizopoda au rol în procesele din sol. Această subclasă cuprinde trei ordine: Amoebida nuda, Amoebida testacea, Foraminifera.

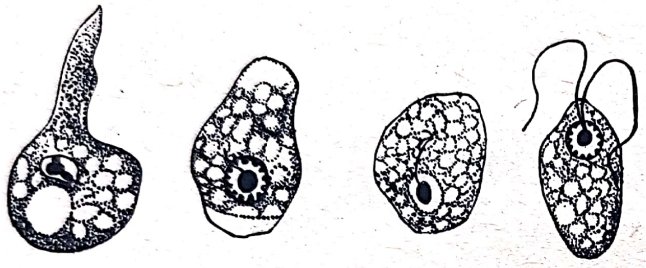


Fig.45. Negleria gruberi. (După M.V. Fedorov).

Ordinul Amoebida nuda cuprinde protozoare de dimensiuni variabile (10-100 microni), lipsite de membrană, iar pseudopodele pe care le emit asigură deplasarea şi alimentaţia. Sînt răspîndite în ape stătătoare şi în sol unde se hrănesc cu bacterii. Din acest ordin se întîlnesc următoarele specii: Negleria gruberi (fig.45), amoebă cu pseudopode mari, iar în anumite stadii de dezvoltare posedă flageli; Amoeba verrucosa, care emite pseudopode scurte şi se hrăneşte cu filamente de alge albastre şi cu bacterii; Amoeba proteus, care emite în jos pseudopode scurte prin care se sprijină de substrat şi are mişcarea analogă mersului.

Ordinul Amoebida testacea cuprinde aşa-numitele amoebe cu scoică. Acestea sînt amoebe înconjurate cu un test de forma unui sac în constituţia căruia poate intra chitina. Testul are o deschidere prin care ies pseudopodele. Din acest ordin se pot cita ca reprezentanţi în sol: Arcella vulgaris, Difflugia pyriforma (fig.46), Euglipha (fig.47).

Ordinul Foraminifera. Corpul acestor protozoare este învelit de un test gros format din pseudochitină. Emit pseudopode filamentoase prin orificii ale testului.

Clasa Mastigophora (Flagellata). Intre reprezentanţii acestei clase, în sol se găsesc atît forme autotrofe cît şi forme heterotrofe. Nutri-

ţia autofrofă devine posibilă datorită prezenţei în celule a unor cromatofori cu clorofilă. Dintre flagelatele autotrofe din sol sînt importante următoarele ordine: Chrysomonadida, Cryptomonadida, Dinoflagellata,

Fig.46. Difflugia piriformis (După J.Pochon şi H. de Barjac).

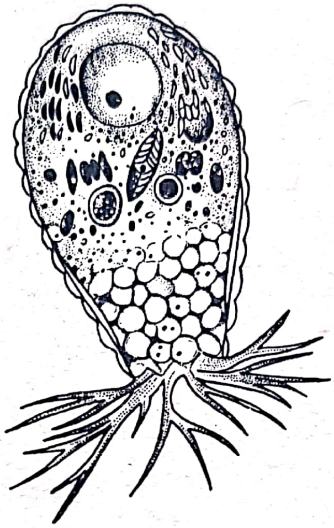


Fig.47. Euglipha alveolata. (După M.V.Fedorov).

Fig.48.Bodo caudatus. (După M.V.Fedorov).

reprezentat prin forma Bodo caudatus (fig.48), Chloromanadida, Euglenida, cu diferite specii de Euglena şi Phytomonadida, cu formele tipice Pandorina şi Chlorogonium.

Clasa Infusoria (Ciliata). Acestei clase aparţin protozoare care se mişcă cu ajutorul a numeroşi cili, care sînt nişte excrescenţe protoplasmatice. Al doilea caracter al infuzoriilor este prezenţa în corpul lor a doi nuclei cu însuşiri diferite. Infuzoriile se grupează în diferite grupuri după aparatul nuclear şi dispoziţia cililor vibratili.

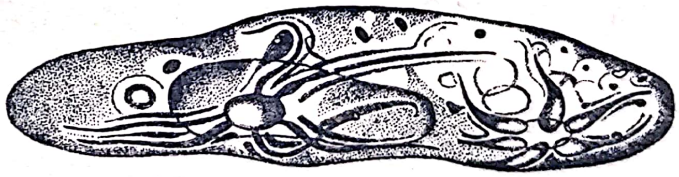


Fig.49. Paramaecium. (După M.V.Fedorov).

Holotricha - flagelate, cu corpul acoperit în întregime cu cili uniformi. Ca forme răspîndite în sol se cunosc: Paramaecium (fig.49), Balantiophorus (fig.50), Colpoda (fig.51).

Heterotricha - flagelate, cu cili neuniformi, reprezentate în sol prin Balantidium, Pleurotricha (fig.52) şi Ganostomum (fig.53).

Fig.5o. Balantiophorus elongetrs. (După M. V.Fedorov)

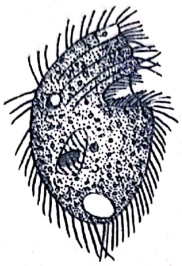


Fig.51. Colpoda steinii. (După M.V.Fedorov)

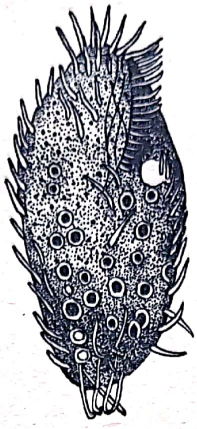


Fig.52. Pleurothricha grandis. (După M. V.Fedorov) .

Fig.53. Ganostomum affines. (După M. V.Fedorov).

Fig.54. Vorticella microstoma. (După M.V. Fedorov).

Peritricha - organisme sedentare cu cili dispuşi în jurul citostomului. Cele mai răspîndite în sol sînt diferite specii ale genului Vorticella (fig.54).

RĂSPÎNDIREA ŞI IMPORTANŢA PROTOZOARELOR ÎN PROCESELE DIN SOL

Ca şi în cazul algelor, rolul protozoarelor din sol este oarecum secundar. Fiind în majoritate microprădători care se nutresc cu bacterii şi numărul lor oscilînd între lo ooo şi cîteva sute de mii pe gramul de sol, pot participa activ la echilibrul microflorei solului. Problema răspîndirii protozoarelor nu este destul de clarificată. Aceasta datorită faptului că numărarea lor poate fi făcută numai prin metoda diluţiilor la limită, metodă care nu poate da rezultate precise. Din datele obţinute de diverşi cercetători reiese că protozoarele sînt mai răspîndite în sol în stratele superioare (15-2o cm), unde numărul lor variază între

10 000 pînă la un milion de celule la un gram de sol. Sub 30 cm, numărul lor trece rareori de cîteva sute pe gramul de sol, iar la adîncimi mai mari, fie că nu se găsesc de loc, fie că numărul lor este foarte mic. Protozoarele mai pot fi găsite în număr mic şi la adîncimi de 60-80 cm, numai în solurile care suportă o uscăciune puternică la suprafaţă. Răspîndirea protozoarelor variază mult şi cu tipurile de sol de pe suprafaţa globului. Este bine stabilit însă că orice tip de sol indiferent de localizarea geografică, conţine protozoare. Stabilirea numărului de protozoare în sol este mult îngreuiată, datorită faptului că protozoarele în condiţii nefavorabile trec în stare de închistare. Protozoarele pot avea un rol în sol numai cînd se găsesc în stare fiziologic activă. Această activitate este deosebit de mare atunci cînd solul este suficient de umed în urma precipitaţiilor sau a stropirilor. Posibilitatea protozoarelor de a se răspîndi în toate solurile se datoreşte marii lor adaptabilităţi şi capacităţii de a se închista. Adaptarea lor constă în micşorarea dimensiunii corpului de 5-10 ori faţă de dimensiunile aceloraşi specii care trăiesc în mediu acvatic. Unele flagelate ajunse în sol, pe lîngă reducerea dimensiunilor, pierd flagelul anterior. Aceste modificări reprezintă de fapt adaptări care favorizează deplasarea protozoarelor printre particulele solului. Răspîndirea protozoarelor în sol este influenţată în mare măsură şi de starea de prelucrare a solului. Dacă în nisipurile din unele pustiuri se pot găsi numai 100-300 de celule pe gramul de sol, în terenurile cu culturi agricole ajung pînă la 400 000 şi chiar 600 000 pe gramul de sol. Protozoarele sînt foarte frecvente în solurile cultivate şi mai cu seamă în rizosferă, unde bacteriile sînt mult mai abundente.

Numărul protozoarelor din sol este influenţat şi de reacţia solului. Astfel, protozoarele se dezvoltă bine în solurile cu alcalinitate mică, şi foarte slab, pe cele acide. Tratarea cu var a acestora din urmă face să activeze viaţa atît a bacteriilor cît şi a protozoarelor care trec repede din starea închistată în stare de activitate fiziologică. Concentraţia sărurilor din sol determină o anumită dezvoltare a protozoarelor. O concentraţie mai mică de săruri le trece în stare de închistare, o cantitate mai mare de substanţe organice duce însă la o dezvoltare rapidă şi numărul lor creşte simţitor.

Rolul real al protozoarelor în sol nu este încă stabilit. Multe protozoare aparţinînd diferitelor grupe şi genuri, în special amoebele, ciliatele şi flagelatele, se nutresc exclusiv cu bacterii. Aşa cum au arătat experienţele diferiţilor cercetători, modul de viaţă al răpitorilor din

sol duce la micşorarea numărului de bacterii, ceea ce practic ar dăuna fertilităţii solului. Această problemă are două aspecte. Pe de o parte, numărul de bacterii din sol scade realmente, ele fiind consumate de protozoare. Pe de altă parte, protozoarele sînt foarte sensibile la variaţiile condiţiilor de mediu şi moartea lor masivă în anumite momente creează în sol o rezervă importantă de substanţă organică pe baza căreia se dezvoltă bacteriile. Prin distrugerea surplusului de bacterii, protozoarele pot stimula dezvoltarea lor ulterioară şi prin urmare se vor stimula şi transformările biochimice din sol condiţionate de aceste bacterii. Astfel, modul de viaţă al protozoarelor are în sine aspecte contradictorii, şi anume, distrugerea fizică a bacteriilor duce la o activare reală a înmulţirii şi activităţii biochimice a bacteriilor. Aceste aspecte au fost verificate experimental pe culturi in vitro de bacterii, în prezenţa sau în lipsa protozoarelor. In cursul acestor experienţa s-a verificat in vitro acţiunea stimulatoare a protozoarelor asupra activităţii biochimice a bacteriilor. Astfel, în experienţele lui S.M.N a s i r (1923) cu Azotobacter, în 86% din culturile la care s-au adăugat protozoare (Colpidium colpoda), s-a fixat mai mult azot molecular decît la culturile martor. In anul 1926, D.W.C u t l e r şi D.V.B a l confirmă aceste rezultate şi le explică prin aceea că fagocitarea Azotobacterului de către Colpidium ar provoca o dezvoltare mai rapidă a bacteriei, iar formele tinere fixează azotul mai intens decît cele bătrîne. Alţi autori, ca, de pildă, R.J.H a r v e y şi J.E.G r e a v e s (1941), presupun eliberarea în mediul de cultură de către protozoare (ciliate, ca Oxytrichidae-le şi Colpidium colpoda, precum şi cîteva amoebe şi flagelate) a unor substanţe stimulatoare faţă de Azotobacter. T.L. H i l l (1916) constată că prezenţa protozoarelor stimulează procesul de amonificare. J.M e i k l e j o h n (1930) explică aceasta prin faptul că protozoarele ar reduce numărul de bacterii la optimul necesar pentru desfăşurarea procesului. C u t l e r şi C r u m p au arătat că activitatea generală a bacteriilor, determinată prin eliberare de CO_2, este sporită în prezenţa amoebelor.

Considerîndu-se aceste acţiuni ca fiind indirecte asupra fertilităţii solului, se poate afirma că protozoarele mai pot exercita şi influenţe directe asupra proceselor din sol.

Diferiţi cercetători, printre care P.E.M u l l e r şi L.H i l t n e r, atrag atenţia asupra participării active a protozoarelor la degradarea substanţelor organice conţinute în sol şi la formarea humusului. Numărul de lucrări consacrate acestor probleme este mic, şi datele experi -

mentale existente nu sînt concludente. Totuşi, merită o atenţie deosebită lucrările lui E. B r e a l, care a stabilit degradarea ţesuturilor vegetale cu eliberare de amoniac sub influenţa protozoarului Colpoda. De asemenea, lucrările lui A.G. A l e x e e v dovedesc asimilarea de către protozoare a părţilor componente minerale şi organice din bălegar. Toate datele prezentate mai sus demonstrează că protozoarele, în special indirect dar şi direct, sînt capabile să exercite o acţiune favorabilă asupra solului.

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul VII

VIRUŞII DIN SOL

In afară de grupele de microorganisme prezentate, în natură (inclusiv în soluri) există o categorie de agenţi vii de dimensiuni submicroscopice, a căror dezvoltare se realizează numai prin parazitism intracelular pe gazde corespunzătoare. In lipsa gazdei specifice, activitatea vitală a particulelor virale este slabă sau chiar inexistentă şi în primul rînd este exclusă multiplicarea. Virusii paraziteaza şi provoacă boli la plante, animale şi microorganisme. Virusii care atacă microorganismele se numesc bacteriofagi şi respectiv actinofagi. In sistematica lui D.H.Bergey, virusii sînt incluşi în ordinul Virales, din clasa Microtatobiotes din filumul Protophyta. In general, taxonomia bacteriofagilor se conduce după specificitatea pentru anumitele gazde atacate de preferinţă. Se cunosc numeroase specii bacteriene sensibile la atacul unor fagi strict specifici. Polivalenţa bacteriofagilor este limitată la reprezentanţii unui singur gen de bacterii, sau în cazuri mai rare, la genuri foarte apropiate filogenetic. Deşi virusii nu se pot multiplica în sol, ei îşi pot păstra un timp oarecare capacitatea de infecţie şi după recoltarea plantelor-gazde sau dispariţia bacteriilor specifice. Dintre virusii din sol care paraziteaza pe plante superioare se pot cita virusii mozaicului grîului, ovăzului, tutunului, cartofului, ale căror efecte pot fi combătute prin tratarea solurilor cu cloropicrină, formol, sulfură de carbon etc.

Din sol s-au izolat bacteriofagi specifici pentru bacterii, ca Aerobacter, Agrobacterium, Arthrobacter, Pseudomonas, Rhizobium, Streptomyces, Azotobacter, Nocardia.

Morfologic, bacteriofagii se prezintă ca niste corpuscule mici, submicroscopice, care trec prin filtrele bacteriene. Bacteriofagii posedă un "cap" de aproximativ 50 x 100 milimicroni şi o "coadă" de aproximativ

loo x 25 milimicroni. Coada reprezintă un punct de atașare la suprafața bacterici, care cu ajutorul unei enzime perforează peretele celulei bacteriene. Prin axul cozii și perforația realizată în peretele celular, migrează ADN-ul din partea centrală a capului pătrunzînd în citoplasmă, unde reprofilează metabolismul celulei în sensul sintezei de noi particule virale. In culturi pe agar, punctele din colonii atacate de bacteriofagi apar ca zone clare. In suspensii bacteriene, atacul bacteriofagic se soldează prin limpezirea mediului. Din astfel de suspensii de bacterii lizate, prin ultrafiltrare se pot obține suspensii de viruși, utilizabile în experiențe de laborator.

O proprietate interesantă a bacteriofagilor este capacitatea lor de a trăi în unele celule bacteriene fără a provoca o liză evidentă, dar eliberînd spre exterior noi particule virale. Astfel de bacteriofagi sînt numiți <u>bacteriofagi temperați</u>, iar celulele bacteriene ce-i poartă se numesc celule lizogene. Depistarea raselor bacteriene lizogene se poate realiza adăugînd într-o cultură de bacterii sensibile o cantitate mică de bacterii bănuite ca lizogene. Dacă suspensia de bacterii se limpezește înseamnă că rasa cercetată este lizogenă.

In legătură cu lizogenia apare și <u>transducția</u>, adică proprietatea virușilor de a transmite o parte din materialul ereditar al unei celule lizogene la alte gazde noi. Ca rezultat, rasele de bacterii nou-infectate sînt trecute în cadrul rasei de la care vine virusul temperat. Se crede că transducția se poate realiza și între genuri apropiate.

Importanța bacteriofagilor din sol constă în aceea că influențează într-o măsură oarecare ecologia bacteriilor-gazde în sensul că distrug rasele de bacterii lizosensibile. Răspîndirea și importanța virușilor din sol sînt influențate de capacitatea humusului și a argilelor de a adsorbi și imobiliza particule virale. Astfel este cunoscut că solurile argiloase și bogate în humus adsorb cantități mai mari de particule virale decît solurile nisipoase. Prin aceasta, alcătuirea generală a solurilor influențează răspîndirea și intensitatea bolilor virotice ale plantelor superioare.

Importanța agricolă a bacteriofagilor este puțin cunoscută. S-au executat studii intense asupra legăturii între bacteriofagii speciilor de Rhizobium și producția plantelor leguminoase. Existența rhizobiofagilor a fost presupusă de O. L o e w și K. A s o, în anul 1908 și demonstrată direct de către A. G r i j n e în anul 1927.

Rhizobiofagii sînt destul de larg răspîndiţi în majoritatea solurilor de pe glob şi în special în cele cultivate cu leguminoase, densitatea maximă fiind în rizosfera apropiată de rădăcini. Existenţa lor a fost constatată, de asemenea, în nodozităţile mature sau la începutul îmbătrînirii (E.K.A l l e n şi O.N. A l l e n, 1950). Răspîndirea rhizobiofagilor nu este influenţată de condiţiile din sol. Astfel, ei au fost izolaţi din diverse soluri cu pH-ul variind între 5,2 pînă la 9,3 şi din soluri care au îngheţat în timpul iernii. In schimb sînt inactivaţi prin căldură (5 min. la 70°C) şi raze ultraviolete. Rhizobiofagii rezistă cîteva săptămîni la uscare şi cîteva luni în tuburi închise cu medii lichide, la temperatura de 0°C.

Atacul fagic asupra celulelor de Rhizobium decurge după schema generală a bacteriofagiei, şi anume, prin adsorbţia fagilor pe pereţii celulari, pătrunderea şi proliferarea fagilor în celulă şi degenerarea şi dizolvarea celulei-gazdă cu eliberarea unui număr sporit de fagi.

Sensibilitatea tulpinilor de Rhizobium la atacul fagic este foarte diferită, constatîndu-se în unele cazuri o evidentă lizorezistenţă, independentă de proprietăţile morfologice, biochimice, serologice sau simbiotice ale celulei-gazdă. După D.G.L a i r d (1932-1933), atît în sol cît şi în nodozităţi există printre celulele de Rhizobium mutanţi naturali rezistenţi la atacul fagic. Chiar în aceeaşi nodozitate pot coexista tipuri bacteriene lizosensibile şi lizorezistente.

Cu toate aceste cunoştinţe asupra proprietăţilor şi modului de acţiune a rhizobiofagilor, rolul şi efectul lor real în sol rămîn încă necunoscute. Lizei fagice din nodozităţi i s-a atribuit un rol în transferul azotului fixat, din nodozitate spre planta-gazdă, ceea ce nu s-a confirmat în lucrări ulterioare. Pe de altă parte, autori francezi şi sovietici atrag atenţia asupra rolului rhizobiofagilor în "oboseala lucernierelor", ceea ce nu s-ar manifesta în culturile de leguminoase anuale. Alte lucrări executate cu bacteriofagi specifici pentru Rhizobium trifolii (D o r o s i n s k i, 1941), R. meliloti (Don T.P a r k e r şi O.N. A l l e n, 1954) şi Lotus corniculatus (C.W.B r u c h şi O.N. A l l e n, 1955) constată că acţiunea acestora nu se resimte asupra creşterii plantelor de experienţă şi nici asupra cuantumului fixării simbiotice a azotului molecular. Totuşi, J. K l e c z k o w s k a admite că rhizobiofagii ar putea determina o scădere a recoltei prin aceea că ar permite predominarea raselor neeficiente de Rhizobium.

Partea a doua

PRINCIPALELE PROCESE MICROBIOLOGICE DIN SOL

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul VIII

DESCOMPUNEREA SUBSTANȚELOR ORGANICE NEAZOTATE

Substanţele organice neazotate care ajung în sol provin din ţesuturi vegetale moarte sau din îngrăşămintele naturale. In studiul biologiei solului, aceste substanţe se pot clasifica după solubilitatea lor în soluţia solului de care depinde viteza de descompunere microbiană. Astfel, cele mai solubile sînt glucidele simple şi acizii organici, puţin solubile sînt hemicelulozele, insolubile, amidonul, celuloza, lipidele, cerurile şi răşinile. Cea mai rezistentă la agenţi biologici este lignina, care se descompune foarte greu.

Produşii intermediari ai mineralizării depind de microorganismele atacante, bacteriile aerobe, anaerobe sau ciupercile, a căror dezvoltare este condiţionată de factori abiotici, ca: umiditatea, aeraţia, temperatura solului.

De exemplu, glucoza ajunsă în sol poate suferi:

1 - atac bacterian aerob, din care rezultă ca produşi intermediari acizii: piruvic şi lactic, acetaldehide, acidul acetic, iar termenii finali sînt CO_2 şi H_2O;

2 - atac fungic aerob; acest atac este însoţit de formarea de acizi: glicuronic, citric, oxalic, fumaric, succinic;

3 - atac bacterian anaerob, însoţit de formarea de acizi volatili cu 1-5 atomi de carbon, ca: acid lactic, butiric, iar pe de altă parte, hidrogen, metan şi bioxid de carbon;

4 - atac fungic care duce la formare de acid fumaric şi alcool.

In sol, aceşti produşi intermediari sînt imediat metabolizaţi de alte microorganisme pînă la o completă mineralizare (CO_2 şi H_2O, sau pentru sinteza constituenţilor celulari (exemplu, utilizarea alcoolilor şi acizilor organici de către Azotobacter).

Microflora care degradează glucidele şi alte substanţe solubile în apă este puţin specializată şi aparţine mai cu seamă genului Bacillus. Studiile efectuate pe unele tipuri de soluri au constatat succesiunea a două flore zimogene: mai întîi se observă proliferarea speciei Bacillus megaterium care formează acidul beta-oxibutiric, după care urmează dezvoltarea diferitelor specii de Pseudomonas, care utilizează acizii eliberaţi prin autoliza lui Bacillus megaterium. Asemenea fapte dovedesc că în sol procesele decurg în lanţ şi nu prin reacţii simple. In afară de aceasta, reacţiile de degradare sînt întrepătrunse cu reacţii de sinteză; de exemplu, anumite bacterii utilizează zaharurile simple pentru sintetizarea polizaharidelor cu greutate moleculară mare de tipul hemicelulozelor necesare pentru formarea capsulelor mucilaginoase.

DEGRADAREA HEMICELULOZELOR

Hemicelulozele sînt polizaharide a căror structură chimică este insuficient clarificată. In compoziţia lor intră pentozane şi hexozane. Se extrag în soluţii de alcalii diluaţi, precipită în prezenţa alcoolilor şi se hidrolizează sub acţiunea acizilor, obţinîndu-se oze şi acizi uronici. După natura zaharurilor eliberate prin hidroliză, s-a stabilit că hemicelulozele conţin: pentozane (arabane, xilane, araboxilane); metilpentozane (ramnozane, fucozane); hexozane (glucozane, fructozane). In ţesuturile vegetale, procentul de hemiceluloză variază între 6 şi 30% repartiţia fiind destul de variabilă după speciile vegetale. La dicotiledonate, ea variază între 17 şi 30%, iar la monocotiledonate, între 6 şi 12%. In sol, hemicelulozele se găsesc, de asemenea, în proporţii variate. O parte din hemicelulozele solului sînt de origine bacteriană. Procesul de degradare a hemicelulozelor a fost studiat îndeosebi în ţesuturile vegetale pe cale de putrezire în gunoiul de grajd. Atacul decurge relativ rapid (în primele 8 zile), în care timp aproape jumătate din hemicelulozele dispar. Apoi acest atac se încetineşte considerabil şi rămîne o fracţie reziduală nemetabolizată, aceasta depinzînd de eterogenitatea constituţiei hemicelulozelor. In general, se manifestă tendinţa de acumulare a acizilor uronici care în cursul degradării hemicelulozelor sînt metabolizaţi mai greu. De exemplu, din 100 g paie de ovăz, care conţin

23% hemiceluloze, în primele 4 zile dispar lo g, după următoarele 4 zile 1,5 g, iar în următoarele 8 zile, numai 1,23 g. In gunoiul de grajd, bine fermentat, dispariţia hemicelulozelor pînă la 99% are loc după 9 luni. Cercetătorii J. P o c h o n şi I. A u g i e r (1954), însămînţînd în sol o placă cu silicagel impregnată cu hemiceluloze, ca singură sursă de carbon, au constatat că se dezvoltă colonii de bacili sporulaţi şi nesporulaţi şi cocobacili. Aproape întotdeauna pe aceste plăci se dezvoltă şi azotobacter. Se ştie însă că azotobacterul este incapabil de a ataca direct hemicelulozele, însă el proliferează pe produşii intermediari ai metabolismului celorlalte microorganisme. In aceste condiţii, degradarea celulozelor decurge cu formare de acid butiric. Prin trecerea acestor culturi pe mediu lichid, s-au putut constata viteza şi procentul de descompunere în funcţie de grupa de microorganisme care atacă: ciuperci, actinomicete sau bacterii. Dintre ciuperci s-au identificat următoarele: Zygorhynochus, Cuninghamella, Rhizopus, Penicillium, Trichoderma, Humicola, Aspergillus fumigatus şi A. niger. Nu s-au identificat actinomicete şi bacterii specifice, nici aerobe nici anaerobe. Dintre bacteriile celulozolitice polifage, unele sînt capabile să atace şi hemicelulozele, ca: Achromobacter picrum, Pseudomonas ephemerocyanea, Ps. erythra etc. Dintre celulozoliticele autentice, a fost găsită Sporocytophaga myxococcoides. Microflora hemicelulozolitică din sol îndeplineşte un rol important în degradarea resturilor organice şi acţionează pe orice fel de soluri, atît pe cele neutre cît şi pe cele acide.

DEGRADAREA AMIDONULUI

In afară de seminţe şi tuberculi care conţin amidon pînă la 70% din greutatea uscată, restul ţesuturilor vegetale sînt foarte sărace în această substanţă.

Amidonul ajuns în sol se degradează foarte repede. Procesele amilolitice sînt diferite după natura solului, umiditate şi temperatură. In soluri cu fertilitate mijlocie, bine aerisite, la temperatura de 18°C şi la semisaturaţie cu apă, amiloliza este executată numai de bacterii aerobe şi ciuperci. La saturaţia cu apă a solului, intervin şi bacterii

facultativ anaerobe, din genul Bacillus (B. macerans, B. subtilis, B. cereus, B. mesentericus, B. amylobacter), iar amiloliza este ceva mai accelerată. In aceleaşi condiţii, dar la 33°C, intervin formele strict anaerobe de tipul Clostridium, iar amiloliza este foarte rapidă.

In anumite experienţe s-a constatat că şi actinomicetele pot interveni în amiloliză.

In aerobioză, amiloliza este executată în special de către bacterii Gram negative nesporulate, dintre care Endosporus filamentosus (facultativ aerob) degradează amidonul complet pînă la acizi şi alcooli. De asemenea, un număr mare de bacterii celulozolitice sînt totodată amilolitice, ca şi unii fixatori de azot (Azotobacter). In anaerobioză, amiloliza este executată de o serie de specii de Clostridium (Cl. butyricum, Cl. perfrigens). O specie foarte specializată este Clostridium amyloliticum. Toate aceste specii degradează amidonul pînă la acizi organici.

PROCESE DE DESCOMPUNERE ANAEROBĂ

Fermentaţia butirică

Este un proces microbiologic de descompunere a zaharurilor, în urma căruia se formează acid butiric. Fermentaţia butirică a fost descoperită de L o u i s P a s t e u r, în anul 1861, stabilind prin aceasta posibilitatea vieţii fără oxigen, proces care în prezent poartă numele de anaerobioză. Această fermentaţie este produsă de grupa bacteriilor butirice, microorganisme bacilare care conţin în protoplasma lor o substanţă nutritivă de rezervă, numită granuloză. Aceste bacterii Gram pozitive au capacitatea de a forma spori, localizaţi fie la capătul celulei, fie în partea centrală. Bacteriile butirice sînt obligat anaerobe şi se pot dezvolta atunci cînd în atmosferă oxigenul nu trece de 20-30 mg pe litru. Prin aceasta, unele forme se apropie de bacteriile facultativ anaerobe. Ca sursă de carbon ele utilizează hidraţii de carbon, unii acizi organici (lactic, piruvic) şi anumiţi alcooli, ca manita şi glicerina. Ca sursă de azot, bacteriile butirice utilizează variaţi compuşi organici azotaţi. Unele forme au capacitatea de a asimila azotul molecular din atmosferă. Ca rezultat al fermentaţiei butirice se formează acid butiric, butanol,

CO_2 şi H_2. Diferitele specii de bacterii butirice se deosebesc între ele prin tipul de sporulare, capacitatea de a fermenta anumiţi hidraţi de carbon, activitatea proteolitică şi prin capacitatea de a fixa azot atmosferic. Dintre bacteriile butirice mai răspîndite în sol pot fi citate

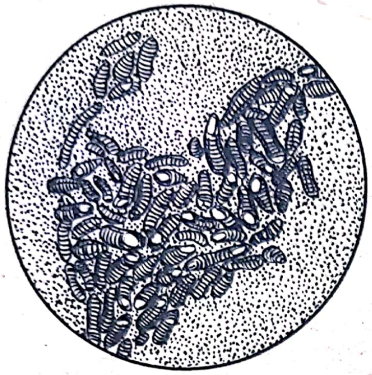


Fig.55. Clostridium pasteurianum. (După M.V. Fedorov).

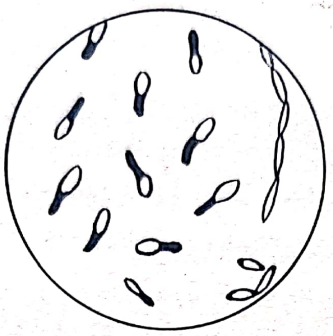


Fig.56. Clostridium felsineum. (După M.V.Fedorov).

Fig.57. Clostridium butyricum. (după M.V. Fedorov).

următoarele: Clostridium pasteurianum (fig.55), a cărei caracteristică este incapacitatea de a fermenta zaharurile complexe, în schimb participă activ la ciclul azotului, fixînd azot atmosferic. Este un bacil mic care în timpul sporulaţiei capătă formă de fus. Clostridium felsineum (fig.56) conţine fermentul pectinază, ceea ce-i conferă capacitatea de a descompune substanţele pectice, accelerînd mineralizarea ţesuturilor vegetale, prin macerarea lor rapidă. Clostridium butyricum (fig.57) este, morfologic, asemănător cu speciile precedente. Ca activitate biochimică se deosebeşte prin faptul că produşii finali sînt alcooli (butilic şi izopropilic). Clostridium saccharobutyricum este agentul adevărat al fermentaţiei butirice, în cursul căreia se formează acidul butiric şi mici cantităţi de acid acetic, precum şi anumite gaze (CO_2 şi H_2). Se dezvoltă numai pe medii neutre. Este o specie aminoautotrofă, utilizînd azot mineral. Nu poate utiliza azot proteic, deoarece nu posedă enzime proteolitice. Pentru dezvoltarea ei este strict necesară prezenţa biotinei. Scindarea hidraţilor de carbon în timpul fermentaţiei butirice se desfăşoară după următoarea formulă globală:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \underset{\text{acid butiric}}{CH_3-CH_2-CH_2-COOH} + 2CO_2 + 2H_2 + 2o \text{ kcal.}$$

In această fermentare, primele etape ale scindării hidraţilor de carbon decurg după schema generală a fermentaţiei alcoolice, care duce la formarea de acid piruvic. Asupra acidului piruvic acţionează în primul rînd o carboxilază, care prin decarboxilare dă naştere la aldehidă acetică după schema:

$$2\ CH_3 - COO - COOH \longrightarrow 2CH_3 - CHO + 2CO_2 \qquad (1)$$

acid piruvic — aldehidă acetică

Aldehida acetică astfel formată, sub influenţa fermentului carboligază, condensează aldolic şi dă fie aldehida acidului betaoxibutiric, fie acetilmetilcarbinol:

$$CH_3 - CHO + HCH_2 - CHO \longrightarrow CH_3CHOH - CH_2CHO \qquad (2,a)$$

aldehida acidului betaoxibutiric

$$CH_3 - CHO + HOC - CH_3 \longrightarrow CH_3 - CHOH - CO - CH_3. \qquad (2,b)$$

acetilmetilcarbinol

Ultimele reacţii sînt procese de sinteză care duc la formarea unui compus cu patru atomi de carbon (aldolul acetaldehidei) din compuşi cu doi atomi de carbon, aldehida acetică. Aldolul acetaldehidei care se formează se transformă apoi în acid butiric:

$$CH_3 - CHOH - CH_2 - CHO \longrightarrow CH_3 - CH_2 - CH_2 - COOH.$$

aldolul acetaldehidei — acid butiric

Din reacţiile prezentate nu reiese momentul degajării hidrogenului aşa cum rezultă din reacţia globală. In realitate, hidrogenul nu se degajă în aceste ultime reacţii ci, este mobilizat de dehidrazele piridinice în cursul întregului ciclu de transformări a glucidelor. Acest hidrogen, negăsind printre produşii finali vreun acceptor, se acumulează în mediu şi se degajă sub formă moleculară.

Agenţii fermentaţiei butirice sînt foarte răspîndiţi în natură. Aceştia atacă orice resturi organice care ajung în condiţii anaerobe. Acest proces are mare importanţă în cazul descompunerii resturilor orga -

nice din sol şi din nămolul bazinelor de apă, în condiţii strict anaerobe.

Fermentaţia butirică a substanţelor pectice

Distrugerea ţesuturilor vegetale moi (nelignificate), de exemplu, distrugerea frunzelor ce cad toamna, este legată de distrugerea legăturii interne dintre diferitele celule, legate în stare normală prin substanţe pectice. Aceste substanţe intercelulare, de natură pectică, sînt insolubile în apă, se găsesc din abundenţă în resturile vegetale şi suferă şi ele o fermentaţie butirică. Descompunerea lor de către bacterii duce la macerarea ţesuturilor vegetale, care sub influenţa fermenţilor secretaţi de bacterii se mineralizează mai repede. Chimismul transformărilor substanţelor pectice, sub acţiunea microorganismelor, nu este încă complet lămurit, ceea ce se explică prin faptul că cunoştinţele noastre cu privire la structura chimică a substanţelor pectice sînt insuficiente. Mersul degradării substanţelor pectice decurge în modul următor: macerarea iniţială a ţesutului vegetal are loc sub influenţa fermentului protopectinază; în urma acţiunii protopectinazei, se formează pectină, la care sub acţiunea pectinazei se hidrolizează legăturile esterice, rezultînd metanol şi acid pectic:

$$(R\text{-}COOCH_3)_n + nH_2O \longrightarrow nR - COOH + nCH_3OH$$

esterul acidului pectic cu metanol — acid pectic — metanol

Pectinaza, fiind în esenţă o esterază, poate rupe şi alte legături esterice, nu numai pe cele din substanţa pectică. Hidroliza pectinei este încheiată de o a treia pectinază, care rupe legăturile glucozidice din acidul pectic după următoarea schemă:

$$C_{46}H_{68}O_{40} + 10H_2O \longrightarrow 4CHO\text{-}(CHOH)_4\text{-}COOH + C_6H_{12}O_6 +$$

acid pectic — acid galacturonic — galactoză

$$+ C_5H_{10}O_5 + C_5H_{10}O_5 + 2CH_3\text{-}COOH + 2CH_3\text{-}OH.$$

arabinoză — xiloză — acid acetic — metanol.

Acidul pectic este o substanţă complexă, a cărei structură se axează în jurul a patru molecule de acid galacturonic combinat cu alte substanţe. Acest complex, după unele date, constituie 94% din substanţa pectică. După cum se vede din formulă, principalii produşi care se obţin în cursul hidrolizei pectinei sînt acidul galacturonic, galactoza, arabinoza, xiloza, acidul acetic şi alcoolul metilic. Dintre aceşti produşi, numai galactoza şi arabinoza suferă transformările fermentaţiei butirice tipice, cu formare de acid butiric, CO_2 şi H_2 sau H_2O. Ceilalţi produşi rămîn netransformaţi şi se acumulează în mediu.

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH + 2CO_2 + 2H_2 + x\ kcal \qquad (1)$$

galactoză — acid butiric

$$C_5H_{10}O_5 \longrightarrow CH_3{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH + CO_2 = H_2O + x\ kcal \qquad (2)$$

arabinoză

Principala bacterie pectinolitică este Clostridium felsineum, denumită şi Bacterium felsineus, bacterie mare, Gram pozitivă, mobilă, cu granuloză ca substanţă de rezervă, în urma activităţii căreia se formează o cantitate mică de acid butiric. O altă bacterie pectinolitică este Granulobacter (Clostridium) pectinovorum (fig. 58).

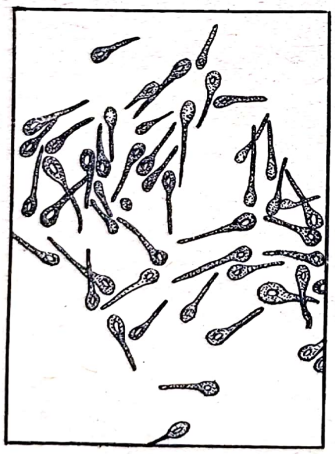


Fig. 58. Clostridium pectinovorum, bacili cu spori la capăt. (După M. V. Fedorov).

După cum s-a spus şi mai înainte, degradarea substanţelor intercelulare de către bacteriile butirice îndeplineşte un mare rol în procesele din sol, deoarece măreşte viteza de mineralizare a ţesuturilor vegetale din sol. Ţesutul macerat în urma activităţii bacteriilor pectinolitice este mai uşor atacat de către bacteriile celulozolitice, care, distrugînd membrana celulară, încheie procesul de mineralizare a resturilor vegetale.

Scanned with OKEN Scanner

Fermentaţia butirică a celulozei

Celuloza reprezintă între 45 şi 80% din greutatea resturilor vegetale uscate. In natură există cantităţi mari de celuloză. Se ştie că în compoziţia organismelor vii de pe pămînt, cantitatea de carbon este apreciată la 700 miliarde tone, iar în compoziţia substanţei organice din sol intră încă 1 400 miliarde tone carbon. Din această mare cantitate de carbon organic, circa 50% intră în compoziţia celulozei.

Primele indicaţii asupra descompunerii microbiene a celulozei au fost date de M i t s c h e r l i c h (1850). Ulterior, P o p o v (1875) a emis ipoteza că în stomacul animalelor are loc o fermentare a celulozei, deoarece cu această ocazie se eliberează metanul care se formează şi în urma descompunerii celulozei în apele stătătoare. Studiul mai

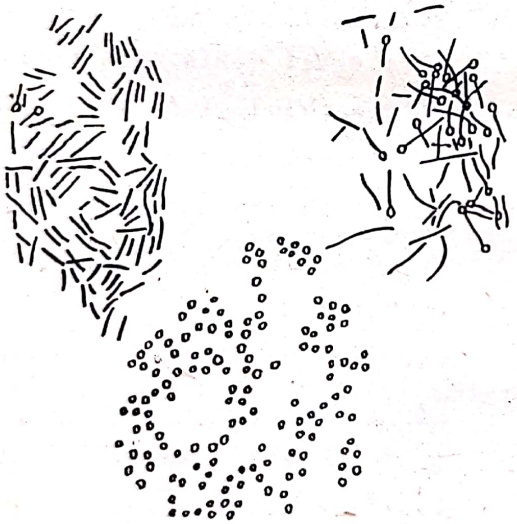


Fig. 59. Bacillus cellulosae hydrogenicus. (După M. V. Fedorov).

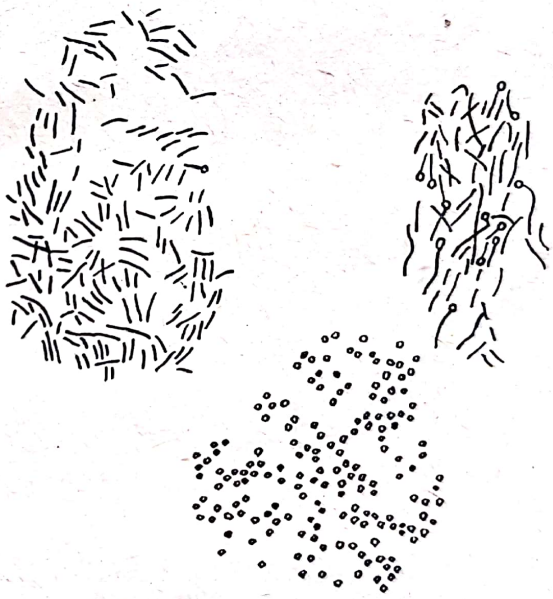


Fig. 60. Bacillus cellulosae methanicus. (După M. V. Fedorov).

amănunţit al acestui proces este însă meritul lui O m e l i a n s k i. Pentru a provoca fermentaţia celulozei, Omelianski a însămînţat cu mîl, în baloane cu gît lung, foiţe de hîrtie de filtru peste care a turnat o soluţie de săruri minerale, care conţinea azot sub formă de sare de amoniu. După o săptămînă sau două, la 35°C, fermentaţia a avut loc cu formare de acizi şi de gaze. Soluţia s-a tulburat, iar hîrtia de filtru ce se găsea pe fund a devenit moale, de culoare galbenă. Fiind descom -

pusă de microorganisme, hîrtia se desface în fibre izolate. Deşi V.Omelianski nu a reuşit să izoleze bacteriile celulozolitice în culturi absolut pure, el a putut stabili că la descompunerea anaerobă a celulozei participă două bacterii. Una din ele formează printre produşii de fermentare a celulozei cantităţi importante de hidrogen, iar cealaltă, cantităţi importante de metan. Prima formă a fost denumită de Omelianski Bacillus cellulosae hydrogenicus (fig.59) care se prezintă sub formă de bastonaşe lungi (lo-12 microni), sporulate terminal. A doua formă, denumită Bacillus cellulosae methanicus (fig.6o), se deosebeşte de prima prin dimensiuni mult mai mici şi viteza germinării sporilor care este mult mai mare decît la sporii B. cellulosae hydrogenicus. Unii autori (K a l u s e n) consideră că ambele bacterii fac parte dintr-o singură specie, Bacillus omelianski. Speciile citate îşi desfăşoară activitatea biologică la temperatura obişnuită de 3o-35°C. In natură mai există bacterii celulozolitice care au un optim termic la temperaturi mai ridicate. Astfel, Bacillus cellulosae dissolvens (fig.61), izolat din fecalele umane, descompune celuloza la temperaturi de 35-51°C. Această bacterie nu poate utiliza ca substrat nutritiv hidraţii de carbon solubili (glucoză, fructoză, galactoză, arabinoză etc.), ci se dezvoltă numai pe celuloză fermentînd-o pînă la acid butiric, acid acetic, alcool etilic, CO_2 şi H_2. Sporii acestei forme sînt ovali, aşezaţi la unul din capetele bastonaşelor şi pot rezista timp de 5o min. la temperatura de loo°C. Din băligarul de cal s-a izolat forma Clostridium thermocellum, un bacil sporulat, facultativ anaerob, de dimensiuni mici (5,o x o,4 microni). Clostridium thermocellum îşi desfăşoară activitatea fermentativă la o temperatură destul de ridicată, 6o-65°C. In urma descompunerii celulozei de către acest bacil se formează acizi volatili (circa 55%), printre

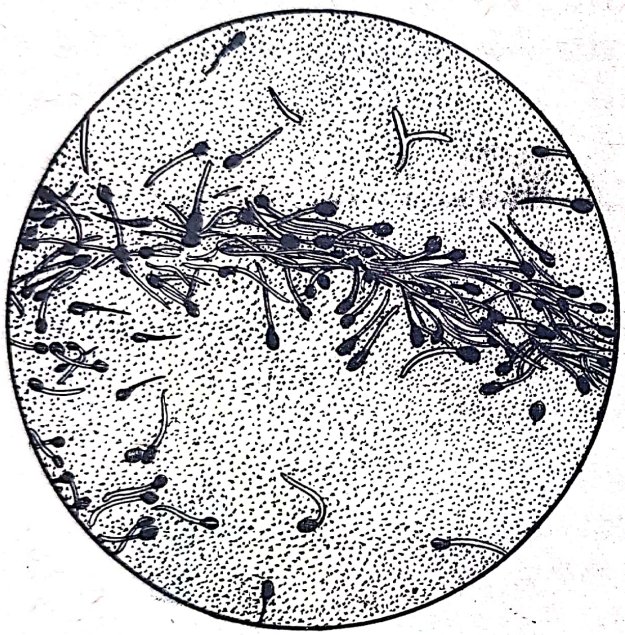


Fig.61. Bacillus cellulosae dissolvens. (După M.V.Fedorov).

care predomină acidul acetic. Totodată se eliberează şi alcoolul etilic (pînă la 10%). Restul de 35% din masa celulozei fermentate se transformă în gaze: CO_2, CH_4 (metan) şi H_2, care se eliberează din mediu. Se crede că bacteriile termofile nu acţionează singure, ci în relaţii de metabioză cu alte bacterii care îmbogăţesc mediul cu substanţe azotate necesare bacteriilor celulozolitice.

Fermentaţia celulozei de către bacteriile celulozolitice este precedată de hidroliza acesteia pînă la celobioză şi apoi la glucoză, care se pot acumula pe mediu după ce bacteriile sînt omorîte prin tratarea culturii cu iodoform sau toluol. Din aceasta se poate deduce că enzimele care hidrolizează celuloza (în special celulaza), îşi păstrează activitatea specifică şi după moartea bacteriei, în timp ce enzimele care efectuează fermentarea glucozei se inactivează după moartea celulei bacteriene.

Hidroliza celulozei începe cu scindarea ei pînă la glucoză, proces care se îndeplineşte cu ajutorul a două enzime care acţionează succesiv: celulaza şi celobiaza.

$$(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \longrightarrow nC_6H_{12}O_6.$$

Procesul de fermentare a celulozei se exprimă global prin următoarea ecuaţie:

$$(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \longrightarrow CH_3-CH_2-CH_2-COOH + CH_3-COOH + CO_2 + H_2 + x \text{ kcal}.$$

Dacă procesul se desfăşoară după această schemă, are loc o fermentaţie hidrogenică. Gazele rezultate reprezintă cam 1/3 din celuloza descompusă, iar acizii formaţi, cam 2/3. Raportul molar între acidul butiric şi acetic este cam 1/1,7. Alteori, după scindarea celulozei în glucide simple, fermentaţia poate lua altă cale, exprimată global prin ecuaţia:

$$(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \longrightarrow CH_3-CH_2-CH_2-COOH + CH_3-COOH + CO_2 + CH_4 + x \text{ kcal}.$$

Aceasta este fermentaţia metanică a celulozei, în care raporturile între produşii finali sînt schimbate mult. Gazele reprezintă o jumătate din greutatea celulozei intrate în fermentaţie, iar raportul molar al acizilor butiric şi acetic este 1/9. Fermentaţia metanică a celulozei nu este

un proces unitar şi pur. Probabil raportul între produşii finali se schimbă, datorită unor reacţii secundare ale acidului acetic, CO_2 şi H_2, în urma cărora se formează metan după una din ecuaţiile:

$$CH_3-COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

sau

$$CO_2 + 8H \text{ (sau } 4H_2) \longrightarrow CH_4 + 2H_2O.$$

Fermentaţia acetono-butilică

In procesul de fermentaţie acetono-butilică, pe lîngă acidul butiric se mai formează şi alte produse. Deosebit de importantă este formarea alcoolului butilic. Bacilul care produce fermentaţia acetono-butilică este cunoscut sub denumirea de Clostridium aceto-butylicum, bacil sporulat, Gram pozitiv, cu granuloză ca substanţă de rezervă. Fermentează anaerob hidraţi de carbon simpli şi complecşi (amidon), cu formare de: butanol, acetonă, alcool etilic, CO_2, H_2 şi alţi produşi secundari în cantităţi mici. Se dezvoltă bine în medii acide şi neutre. Ca surse de azot utilizează substanţele proteice. Clostridium aceto-butylicum se distinge prin necesitatea faţă de unele vitamine, ca biotina şi acidul paraaminobenzoic, în prezenţa cărora se dezvoltă şi pe medii nutritive simple. După N e u b e r g şi A r i n s t e i n (1921) s-a crezut că fermentaţia acetono-butilică decurge după schema generală a fermentaţiilor anaerobe pînă la formarea acidului piruvic. Constatîndu-se că această schemă nu concordă cu anumite date experimentale, J. K l u y v e r (1931) propune o altă schemă, confirmată experimental, în care principalul produs intermediar nu este acidul piruvic, ci metilglioxalul hidratat din care se formează aldehida acetică şi acidul formic.

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_3H_6O_3 \qquad \text{(metilglioxal hidratat)}$$

$$CH_3-CO-\underset{\displaystyle OH}{\overset{\displaystyle H}{C}}-OH \longrightarrow CH_3CHO + HCOOH.$$

metilglioxal hidratat — aldehidă acetică — acid formic

Acidul formic prin dehidrogenare dă CO_2 şi H_2 : $HCOOH \rightarrow CO_2 + H_2$. Aldehida acetică se hidratează, apoi prin dehidrogenare dă acid acetic.

$$CH_3-CHO-H_2O \longrightarrow CH_2(OH)-CH(OH)-OH \xrightarrow{-H_2} CH_3-COOH$$

aldehidă acetică — aldehidă acetică hidratată — acid acetic

Aldehida acetică condenseazâ aldolic dînd acetaldol, din care prin intermediul aldehidei crotonice se ajunge la acid butiric:

$$CH_3-CHO + CH_3-CHO \rightarrow CH_3-CHOH-CH_2-CHO \rightleftharpoons CH_3-CH=CH-C(OH)_2-H \longrightarrow$$

acetaldolul — aldehida crotonică hidratată

$$\longrightarrow CH_3-CH_2-CH_2-COOH \text{ (acid butiric).}$$

Acidul acetic, la rîndul său, suferă un proces de condensare:

$$CH_3-COOH+CH_3-COOH \longrightarrow CH_3-C(OH)_2-CH_2-COOH \xrightleftharpoons{-H_2O} CH_3-CO-CH_2-COOH \longrightarrow$$

produs intermediar — acid acetilacetic

$$\longrightarrow CH_3-CO-CH_3+CO_2$$

acetonă

Urmează o serie de procese de hidrogenare în urma cărora rezultă numeroşi produşi ai fermentaţiei acetono-butilice. Astfel, aldehida acetică prin hidrogenare dă alcool etilic, acidul butiric dă alcool butilic, iar acetona dă alcool izopropilic, conform ecuaţiilor:

$$CH_3-CHO+H_2 \longrightarrow CH_3CH_2OH$$

aldehidă acetică — alcool etilic

$$CH_3-CH_2-CH_2-COOH + 2H_2 \longrightarrow CH_3-CH_2-CH_2-CH_2OH + H_2O$$

acid butiric — alcool butilic

$$CH_3-CO-CH_3 + H_2 \longrightarrow CH_3-CHOH-CH_3$$

acetonă — alcool izopropilic

Această ipoteză a fost confirmată în întregime în anul 1945, prin experienţe minuţioase şi exacte, executate cu carbon marcat. In afară de aceste reacţii mai poate avea loc şi o condensare aldolică a aldehidei acetice catalizată de carboligază, obţinîndu-se astfel şi cantităţi mici de acetilmetilcarbinol după ecuaţia:

$$CH_3-CHO + HOC-CH_3 \longrightarrow CH_3-CO-CHOH-CH_3.$$

aldehidă acetică — acetilmetilcarbinol

După cercetările lui V. S a p o ş n i k o v şi ale lui I e r u s a l i m s k i, s-a dovedit că în această fermentaţie există două faze: 1. faza acidă, în timpul căreia se înmulţesc intens bacteriile şi se acumulează acizi, care reprezintă aproximativ 90% din cantitatea totală de produşi formaţi; 2. faza acetono-butilică, în timpul căreia aciditatea scade, bacteriile mor, iar acetona se acumulează în mare cantitate în mediu împreună cu alcoolul butilic şi alcoolul etilic. Fermentaţia acetono-butilică dirijată în anumite condiţii poate să decurgă fie cu p r e d o m i n a r e a f a z e i a c i d e, f i e cu predominarea acumulării de alcool şi acetonă. Astfel, dacă în substratul care fermentează se introduce acid acetic, cantitatea de acetonă ce se formează creşte foarte mult, atingînd 72% din cantitatea calculată teoretic. Dacă însă în mediul de cultură se adaugă acid butiric, atunci creşte proporţional cantitatea de alcool etilic. Pe baza acestor cercetări s-a clarificat că acidul acetic este premergător acetonei, iar aldehida acetică este premergătorul acidului butiric şi alcoolului etilic. S-a mai dovedit că punctul cel mai înalt al acidităţii este atins la 18 ore de la începutul fermentării. După aceea, curba scade mult pînă la ora a 30-a, după care începe o nouă şi lentă urcare pînă la sfîrşitul fermentaţiei. Formarea acetonei, a alcoolului butilic şi a celui etilic devine rapidă numai după 18 ore şi se păstrează pînă la ora a 42-a. Referitor la gaze s-a găsit că în primul stadiu al procesului se formează mai ales

hidrogen. Numai după 3 ore va începe formarea bioxidului de carbon care va predomina asupra hidrogenului. Creşterea cantităţii de bioxid de carbon coincide cu scăderea aciditătii şi cu apariţia unei mari cantităţi de acetonă şi alcool butilic în mediul respectiv. Bioxidul de carbon formează 60% din volumul gazelor , iar hidrogenul, aproximativ 40%. Deoarece atît acetona, butanolul cît şi ceilalţi produşi de fermentare se formează în anumite proporţii cantitative, fermentaţia acetono-butilică poate fi exprimată prin următoarea reacţie globală:

$$12C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 6CH_3-CH_2-CH_2-CH_2OH + 4CH_3-CO-CH_3 + 2CH_3-CH_2OH +$$

$$+ CH_3-CO-CHOH-CH_3 + 18H_2 + 28CO_2 + 2H_2O + x \text{ kcal.}$$

acetilmetilcarbinol

Clostridium aceto-butylicum este universal răspîndit în solurile de cultură, deşi frecvenţa lui este redusă. De aceea fermentaţia acetono-butilică poate fi importantă în biologia unor soluri prin mineralizarea a variate glucide simple şi complexe, dar importanţa ei este mult mai mare în microbiologia industrială, unde este dirijată pentru obţinerea acetonei şi butanolului.

Descompunerea anaerobă a acizilor organici

Acizii organici pot suferi, de asemenea, procese de fermentare sub influenţa bacteriilor anaerobe. In general, această fermentare constă într-o decarboxilare. După cercetările lui V.Omelianski, sărurile acidului formic sînt fermentate de o bacterie anaerobă, denumită Bacterium formicum, care descompune acidul formic în CO_2 şi H_2, după ecuaţia:

$$HCOOH \longrightarrow CO_2 + H_2 + x \text{ kcal.}$$

Intrucît această reacţie este reversibilă trebuie considerată ca unul din cele mai simple procese ale descompunerii anaerobe a acizilor organici. La fel, Bacterium gracile fermentează acizii succinic şi malic după reacţiile:

$$COOH-CH_2CH_2-COOH \longrightarrow CH_3-CH_2-COOH + CO_2 + x\ kcal$$

acid succinic — acid propionic

$$COOH-CH_2-CHOH-COOH \longrightarrow CH_3-CHOH-COOH + CO_2 + x\ kcal.$$

acid malic — acid lactic

In urma fermentării anaerobe a acidului acetic şi butiric rezultă metan şi CO_2.

$$CH_3-COOH \longrightarrow CH_4+CO_2+ x\ kcal$$

$$2CH_3CH_2-COOH+2H_2O \longrightarrow 5CH_4+3CO_2 + x\ kcal.$$

Metanul mai rezultă şi în urma altor procese fermentative anaerobe de mineralizare a resturilor vegetale şi animale cu formarea unor combinaţii simple, ca metanul, hidrogenul. Acestea sînt tipurile cele mai simple de fermentaţie anaerobă, la baza cărora stau activitatea hidrogenului carboxilic şi tendinţa lui de a trece spre un radical bazic cu eliberare concomitentă de CO_2. Ele sînt punctul de plecare a unor procese mai complexe de fermentarea anaerobă a substanţelor organice. In general, în procesele anaerobe descrise se eliberează cantităţi de energie foarte mici în comparaţie cu procesele aerobe de oxidare a substanţelor organice. De aceea, pentru obţinerea unei cantităţi suficiente de energie necesară proceselor vitale, microorganismele anaerobe metabolizează rapid canti - tăţi mari de substanţe organice. Aceasta duce la mineralizarea rapidă a resturilor organice ajunse în sol.

PROCESELE DE DESCOMPUNERE AEROBĂ

Descompunerea aerobă a celulozei

Un proces complicat de oxidare a hidraţilor de carbon este descom - punerea aerobă a celulozei. In circuitul carbonului în natură, descompunerea aerobă a celulozei are o importanţă foarte mare, deoarece pe supra-

faţa pămîntului acest compus se găseşte în cantităţi foarte mari.

Celuloza, fiind un polizaharid foarte rezistent în sol, se poate mineraliza numai sub acţiunea microorganismelor specifice. Acest proces a fost descoperit cu peste 50 de ani în urmă, cînd s-a observat că hîrtia pusă într-o capsulă Petri şi presărată cu sol se acoperă cu pete galbene şi se distruge treptat. In locurile invadate, au fost găsiţi bacilii scurţi sau coci care provoacă distrugerea destul de energică a celulozei, însoţită de dizolvarea şi transformarea ei într-un mucilagiu. Ceva mai tîrziu a fost izolat un germen aerob care descompune foarte energic celuloza şi care a fost denumit iniţial Spirochaeta cytophaga (fig. 62). Acest microorganism este răspîndit în toate solurile înţelenite şi cultivate, precum şi pe resturile organice ce se găsesc în alte medii naturale şi care se pot descompune în prezenţa aerului. Bacteria izolată are forma de bastonaş uşor curbat, cu capetele puţin ascuţite. Celulele vegetative ale acestui microorganism au dimensiuni de 0,3-0,4 microni grosime şi 4,5-6 microni lungime. Vinogradski care a izolat această bacterie în anul 1929 a propus denumirea de Cytophaga hutchinsonii. Ulterior, A. I m ş e n e ţ k i şi L. S o l n ţ e v a (1936) au încadrat acest gen între Myxobacteriales în ordinul Asporiangiales, propunînd denumirea de Myxococcus hutchinsonii. După clasificaţia lui Bergey, genul Cytophaga cu diferite specii descrise de Vinogradski (Cytophaga hutchinsonii, C. lutea, C. rubra, C. aurantiaca) este încadrat în familia Cytophagaceae din ordinul Myxobacteriales.

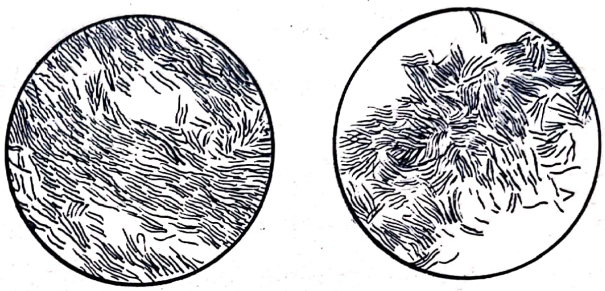


Fig. 62. Spirochaeta cytophaga - cultură tînără pe celuloză (două varietăţi). (După M. V. Fedorov).

Inmulţirea are loc prin strangulare în partea mijlocie a celulei, cînd apar două celule-fiice cu capetele ascuţite. Studiul amănunţit al speciilor de Cytophaga în culturi a arătat că acest microorganism are un ciclu de înmulţire cu totul particular, care se deosebeşte de ciclul simplu de dezvoltare al celor mai multe bacterii. La formele vegetative descrise mai sus se observă după un timp oarecare o reducere a dimensiunilor longitudinale, o mărire a dimensiunilor transversale, iar capetele se rotunjesc. Treptat, Cytophaga capătă o formă de fus şi apoi o formă sferică de 1,5 microni în diametru şi trece în microcist. Suprafaţa microciştilor

este acoperită cu mucilagiu, din care cauză aceştia se lipesc unul de altul formînd aglomeraţii sau lanţuri. Microciştii constituie un stadiu de repaus, iar cînd sînt trecuţi pe mediu nutritiv proaspăt germinează şi repetă ciclul de dezvoltare.

Aceste bacterii se dezvoltă pe medii ce conţin celuloză. Mult timp s-a crezut că glucidele simple nu le pot servi ca sursă de carbon organic, ba mai mult, le opresc dezvoltarea chiar în concentraţii mici (o,o18 - o,o5%). Această situaţie ar fi paradoxală, deoarece prin hidroliza celulei se formează celobioză şi glucoză, care astfel ar inhiba dezvoltarea bacteriei. Problema a fost rezolvată de R.Y.S t a n i e r (1942) prin măsurarea respiraţiei unei culturi pure de Cytophaga în prezenţa unui adaos de glucoză cînd se constată un consum de oxigen mult mai mare decît în lipsa acestui adaos. Aceasta dovedeşte că zaharurile simple pot fi metabolizate de către Cytophaga, dar condiţia esenţială este ca mediul de cultură să fie sterilizat prin filtrare şi nu prin autoclavare (autoclavarea modifică structura chimică a zaharurilor simple şi le face inutilizabile de către Cytophaga).

Pe medii de cultură care conţin zaharuri simple, cultivarea este posibilă pînă la o concentraţie de 2%, iar celulozoliza devine un proces secundar. Din aceste constatări se poate reconstitui următoarea schemă a celulozolizei de către Cytophaga. Sub acţiunea celulazei şi celobiazei, celuloza este hidrolizată la celobioză şi glucoză, dintre care o parte este utilizată în metabolismul plastic şi energetic al celulelor. O altă parte din aceste zaharuri simple este supusă oxidării şi resintezei, din care rezultă un compus macromolecular poliuronic, cunoscut sub numele de "geleu citofagic". Acest "geleu" se formează şi în cazul cultivării speciilor de Cytophaga pe medii nutritive conţinînd exclusiv monozaharide, ceea ce este în sprijinul schemei prezentate.

Dintre reprezentanţii myxobacteriilor care participă la descompunerea celulozei, Imşeneţki şi Solnţeva (1937) descriu forma Sporangium cellulosum. Mulţi reprezentanţi ai myxobacteriilor ce descompun celuloza pot produce pigmenţi într-o măsură mai mare sau mai mică, astfel că aglomeraţiile şi coloniile lor au o culoare bine distinctă (Cytophaga rubra) sau însuşi mediul devine colorat (Sporangium cellulosum). Din ordinul Pseudomonadales, familia Spirillaceae, la descompunerea celulozei, participă genurile Cellvibrio şi Cellfalcicula, studiate foarte amănunţit de Vinogradski (1929). Cellvibrio (fig.63) se prezintă ca bastonaşe mici, monotrihe, curbate, nesporulate, Gram negative. Aceste bacterii se ca-

racterizează prin faptul că oxidează celuloza la oxiceluloză (substanţă mucilaginoasă). O altă formă de bacterii celulozolitice este Cellfalcicula (fig.64). Reprezentanţii acestui gen sînt răspîndiţi în sol, se dezvoltă bine pe hîrtia de filtru, colorîndu-o în verde datorită unui pigment care difuzează apoi în mediul de cultură, de asemenea colorîndu-l.

Fig.63. Cellvibrio ochraceae. (După M. V. Fedorov).

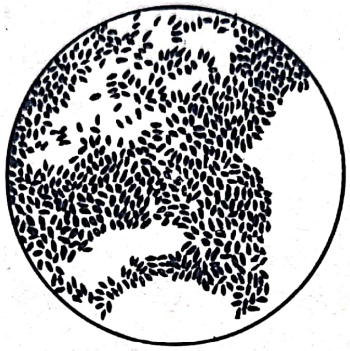


Fig.64. Cellfalcicula viridis. (După M.V. Fedorov).

Fig.65. Trichoderma köningi: a- hife; b- şi c- conidiofori; d- conidii. (După M.V.Fedorov).

Acest pigment poate servi ca un indicator pentru recunoaşterea microscopică a culturii. Privite la microscop, aceste bacterii au aspectul de fus, cu lungimea de 2 microni şi grosimea de 0,7 microni şi sînt dotate cu o mobilitate pronunţată. Deşi nu se pot dezvolta pe alţi compuşi organici decît pe celuloză, totuşi această formă are o acţiune mai slabă asupra celulozei faţă de formele anterioare. La descompunerea celulozei mai pot participa şi ciuperci, ca: Trichoderma (fig.65), Fusarium şi unele specii de Aspergillus, care descompun pînă la 40 % din celuloza pe care o atacă. Dintre actinomicete se poate indica Streptomyces violaceus şi Streptomyces cellulosae. Dacă pe suprafaţa unei hîrtii de filtru se aşază granule de sol, după cîtva timp se va constata că pe suprafaţa hîrtiei apar pete negre sau brune, cu contur neregulat. Privite la microscop, se stabileşte uşor că ele conţin filamente de miceliu aşezate de-a lungul fibrelor de celuloză sau pătrund transversal printre ele. Sub aceste pete nu se observă niciodată formarea de mase mucilaginoase. După cum reiese din cele expuse privitoare la descompunerea celulozei de către microorganisme, modul de descompunere a celulozei diferă mult după organismul atacant. Bacteriile ana-

erobe şi unele aerobe hidrolizează în prealabil celuloza în zaharuri simple care apoi suferă una din fermentaţiile anaerobe descrise: butirică, acetono-butilică etc. In cazul altor bacterii aerobe, deşi procesul de descompunere este energic, de exemplu, Cytophaga şi Cellvibrio, ca produşi intermediari se formează substanţe mucilaginoase care sînt foarte greu atacabile de către alte microorganisme. Intrucît aceste mucilagii precipită sub influenţa acizilor, reiese că în sol ele pot forma substanţe coloidale care pot participa - după părerea lui Vinogradski - la formarea substanţelor humice, prezentînd deci şi oarecare importanţă în structura solului.

Degradarea celulozei sub influenţa bacteriilor celulozolitice urmează schema: prin hidroliza celulozei se formează zaharuri simple, grupările lor $-CH_2OH$ sînt oxidate mai întîi la aldehide $-CHO$ şi apoi în grupări acide - $COOH$. Aceste transformări se pot sesiza prin reacţii de recunoaştere (reacţia Fehling şi colorarea cu albastru de metilen sau safranină). Se poate ajunge la ideea că bacteriile celulozolitice exercită asupra celulozei în primul rînd o acţiune hidrolitică şi apoi o acţiune oxidantă.

Pentru ca bacteriile celulozolitice să-şi ducă activitatea în condiţii optime, trebuie ca reacţia mediului să fie neutră (pH = 7,o), iar în mediu să existe azot asimilabil sub formă de nitraţi sau de săruri de amoniu. Acizii uronici formaţi în cursul celulozolizei pot reacţiona cu proteinele formînd produşi organici greu atacabili de către bacterii, despre care se presupune că pot participa la formarea compuşilor humici. Dacă însă celuloza este supusă unei hidrolize mai profunde, pînă la formarea de glucoză, aceasta se poate oxida mai departe pînă la CO_2 şi H_2O, trecînd însă printr-un stadiu intermediar de oxidaţie:

$$(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O = x\,O_2 \longrightarrow \underset{\text{oxiacizi}}{R - CHOH - COOH} + CO_2 + H_2O + x\ \text{kcal}.$$

Oxiacizii formaţi pe această cale sînt o bună sursă de carbon pentru Azotobacter şi Clostridium, fixatori de azot molecular. De aceea, în solurile în care are loc o intensă descompunere a celulozei, se desfăşoară şi o intensă fixare a azotului atmosferic, ceea ce îmbogăţeşte simţitor solul în azot, sporindu-i fertilitatea. Microorganismele celulozolitice sînt repartizate în sol în mod diferit, după tipurile de sol. Astfel, în cernoziomuri se găsesc reprezentanţii bacteriilor din genurile Cytophaga şi

Cellvibrio, iar în solurile cenuşii, diferite bacterii şi ciuperci.

Avînd în vedere că bacteriile celulozolitice descompun celuloza cu o viteză mai mare decît ciupercile, înseamnă că resturile celulozice din cernoziomuri vor fi descompuse mai repede decît cele din solurile cenuşii. Descompunerea celulozei în sol are loc în două etape, în funcţie de specificul şi energia cu care acţionează diferitele microorganisme celulozolitice. In prima etapă predomină Cellvibrio şi Myxococcus, care descompun resturile vegetale mai mobile, iar în a doua fază se dezvoltă intens bacterii, ca Cytophaga şi Polygangium şi ciuperci, ca Gliobotrys, care descompun părţile mai rezistente.

Oxidarea ligninei şi pentozanelor

Lignina este un compus foarte rezistent la acţiunea factorilor fizici şi chimici şi însoţeşte întotdeauna celuloza mai cu seamă în ţesuturile mecanice. Capacitatea de a ataca lignina o posedă numai o mică parte din bacterii şi unele ciuperci. Unii autori îi atribuie următoarea compoziţie:

$$C_{52}H_{46}O_{1o}\ (OCH_3)\ (COOH)\ (OH)_4CO.$$

O caracteristică a ligninei este însuşirea ei de a da o coloraţie roşie cu fluoroglucina şi acidul clorhidric şi de a se dizolva în reactivul Schultze (un amestec de clorat de potasiu şi de acid azotic). Procentul de lignină în ţesuturile vegetale variază după specie şi organ: 15-2o% în paie şi fîn uscate, 3o% în lemn, 4o% în unele fibre de cocotieri. Conţinutul de lignină la aceeaşi specie variază după faza de dezvoltare a plantei. De exemplu, după W a k s m a n şi T e n n e y, la secară se înregistrează următoarele variaţii: la 3o cm înălţime 9,9%, înainte de înspicare 11,8%, înaintea înfloririi 18%, la maturitate 17%. Conţinutul de lignină interesează atît din punct de vedere teoretic cît şi practic, deoarece de el depinde viteza de desfăşurare a atacului biologic asupra ligninei din resturile vegetale. Un conţinut mare de lignină încetineşte atacul biologic cu aproximativ următoarele valori (după cercetările lui F u l l e r şi N o r m a n, 1943): la 15% lignină încetinirea este sesizabilă, la 2o-3o%, considerabilă, iar la 4o% ţesutul este aproape inatacabil.

Capacitatea de a descompune lignina o au reprezentanţii genului Merulius (ciuperca de casă) ca şi unele forme din genul Cerastomella, care produce putregaiul vînăt al arborilor. Invadarea ligninei începe cel mai des cu periferia lemnului. Merulius lacrymans infectează adesea părţile lemnoase ale construcţiilor şi le strică complet. Dintre mucegaiurile obişnuite, lignina mai este descompusă şi de Mucor chlamydosporus racemosus. Sub influenţa acestei ciuperci, lignina este descompusă energic, celuloza însă nu este atacată. Lemnul descompus de această ciupercă capătă o consistenţă gelatinoasă şi o coloraţie gălbuie, conţinînd aproximativ 84% celuloză şi 3,3% pentozane. Procesul chimic de descompunere a ligninei nu se cunoaşte precis. C z a p e c k, prin frecarea miceliului ciupercii de casă cu nisip şi prin stoarcerea lui ulterioară, a putut obţine fermenţi care dizolvă celuloza şi lignina. Probabil, primul stadiu constă din hidroliza acestor substanţe de către fermenţi, apoi după cît se pare, se produce oxidarea lor, deoarece în sol lignina se distruge treptat. Ca produşi finali de oxidare a ligninei se formează CO_2, H_2O şi produşi încă nestudiaţi, apropiaţi de substanţele humice. Lignina şi celuloza din constituţia ţesuturilor vegetale sînt însoţite totdeauna şi de cantităţi mici de pentozane. Prin încălzire, în soluţii diluate de acizi, acestea se hidrolizează cu formare de pentoze:

$$(C_5H_8O_4)_n + nH_2O \longrightarrow nC_5H_{10}O_5.$$

Probabil, o hidroliză asemănătoare se realizează şi sub influenţa unor microorganisme, ca Bacillus subtilis, Cellulomonas flavigens care elaborează enzime specifice. Degradarea pentozanelor decurge destul de repede în condiţii aerobe ducînd la degradarea lor completă pînă la CO_2 şi H_2O. Oxidarea aerobă a pentozanelor mai poate fi executată şi de unele ciuperci, dintre care cele mai energice sînt: Aspergillus flavus, A. niger, Mucor stolonifer, destul de frecvente pe orice rest vegetal.

Oxidarea substanţelor pectice

Substanţele intercelulare ale diferitelor plante, care cimentează celulele ţesuturilor vegetale, au o structură chimică complexă şi posedă proprietăţi coloidale. De aceea la descompunerea ţesutului vegetal, degradarea lor prealabilă condiţionează disocierea ţesutului vegetal în ce-

lule separate. Greutatea moleculară a substanţelor pectice este destul de mare, ele au o moleculă liniară rezultată prin polimerizarea a circa 100 radicali ai acidului d-galacturonic. Grupările carboxilice ale acidului poligalacturonic pot fi parţial esterificate cu alcool metilic. Se disting trei categorii de substanţe pectice: protopectina, de obicei, sarea de calciu şi magneziu a acidului poligalacturonic, ce însoţeşte unii constituenţi ai membranei celulare şi care de obicei este insolubilă în apă; acidul pectinic (pectina propriu-zisă) reprezentînd acidul poligalacturonic, mai mult sau mai puţin esterificat cu alcool metilic şi, în sfîrşit, acidul pectic care este acidul poligalacturonic neesterificat. Fiecare din aceste componente este descompus de enzime specifice, respectiv protopectinază, pectin-metil-esterază, şi poligalacturonidază. Aceste enzime descompun substanţele pectice pînă la radicali simpli, dintre care în anaerobioză fermentează butiric numai galactoza şi arabinoza. In condiţii aerobe, toţi radicalii rezultaţi sînt oxidaţi mai departe de către alte enzime pînă la CO_2 şi H_2O.

In urma hidrolizei pectinelor rezultă acid galacturonic, galactoză, arabinoză, xiloză, acid acetic şi alcool metilic. Dintre microorganismele pectinolitice care acţionează intens asupra acestor substanţe, cea mai mare importanţă o prezintă Bacillus subtilis, B. mesentericus, Mucor stolonifer. Mai uşor şi mai repede se oxidează galactoza şi acidul acetic, mai greu xiloza, arabinoza şi acidul galacturonic. Oxidarea acestor compuşi este continuată de către o serie de microorganisme, ca Bacillus asteroporus, Aspergillus niger care desăvîrşesc acest proces în proporţii diferite. Microorganismele capabile să degradeze substanţele pectice se dezvoltă bine la temperaturi joase şi de aceea macerarea ţesutului vegetal decurge în mod normal şi în timpul rece al anului. Microorganismele pectinolitice citate acţionează mai intens, şi activitatea lor este foarte importantă în litiera pădurilor de foioase, unde poziţia dezordonată a frunzelor de pe suprafaţa solului creează condiţii optime de aerobioză. In astfel de condiţii, aceste microorganisme se dezvoltă în toată masa frunzarului, macerînd ţesutul frunzelor în celule izolate şi creînd pe această cale condiţii optime pentru dezvoltarea microorganismelor celulozolitice. Activitatea acestor organisme stă şi la baza descompunerii substanţelor pectice în cursul topirii inului prin procedeul numit "la rouă". Topitul inului prin rouă şi-a luat denumirea de la metoda întinderii inului toamna pe iarbă, unde roua menţine materialul într-o umiditate permanentă şi face să se dezvolte în el ciupercile şi bacteriile ce descompun substanţele pectice.

Oxidarea grăsimilor

In compoziţia protoplasmei diferitelor organisme vii intră şi grăsimile care sînt substanţe organice inerte, esteri ai glicerinei cu acizii graşi. Aceste grăsimi ajung în mod constant în sol împreună cu resturile vegetale şi animale şi sînt supuse acţiunii de degradare şi de mineralizare sub acţiunea microorganismelor lipolitice. Dintre componenţii moleculelor acestor esteri, deosebit de rezistenţi la degradare sînt acizii graşi (palmitic, stearic, oleic). Intre microorganismele lipolitice intră diferite forme de bacterii şi ciuperci. Dintre bacteriile care descompun cel mai activ grăsimile se cunosc următoarele forme nesporulate: Bacterium fluorescens, Pseudomonas pyocyanea, Bacterium prodigiosum, Bacterium lipolyticus. La descompunerea grăsimilor participă şi diferite ciuperci, dintre care mai energice sînt: Aspergillus niger, Oidium lactis, care duc oxidarea acizilor graşi pînă la CO_2 şi H_2O. Viteza de descompunere a grăsimilor în sol este destul de mică. După unele date, la un metru cub de sol arabil în timp de un an se descompun aproximativ un kg de grăsimi. Oxidarea grăsimilor începe cu saponificarea lor în glicerină şi acizi graşi. Procesul este condus de o esterază specifică, numită lipază şi decurge după ecuaţia:

$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CHOCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{35} \end{array} + 3H_2O \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + 3C_{17}H_{35}COOH.$$

tristearină — glicerină — acid stearic

După hidroliză în acizi graşi şi glicerină s-a constatat că în mediul de cultură al microorganismelor lipolitice se acumulează acizi graşi liberi, ceea ce arată că hidroliza grăsimilor însoţită de utilizarea unuia din componenţi - glicerina. Cu cît mediul este mai sărac în oxigen, cu atît cantitatea de acizi graşi acumulaţi este mai mare. Procesul de mineralizare a acizilor graşi este destul de neclarificat. Se bănuieşte că degradarea acestor acizi se realizează printr-un fenomen de beta-oxidare, din care rezultă acid acetic şi acizi graşi cu număr mai mic de atomi de carbon. Procesul decurge după ecuaţia:

$R-CH_2-CH_2COOH \xrightarrow{-2H} R-CH=CH-COOH \xrightarrow{+HOH} R-CHOH-CH_2COOH \xrightarrow{-2H}$

acid stearic — acid stearic beta-oxidat — acid oxistearic

$\longrightarrow R-CO-CH_2-COOH \xrightarrow{+HOH} R-COOH + CH_3-COOH.$

acid cetostearic — radical principal — acid acetic

Radicalul principal suferă acelaşi ciclu de transformări începînd cu beta-oxidarea, ciclu care se repetă pînă la epuizarea radicalului principal. Acidul acetic poate intra în diferite cicluri de transformări sub acţiunea a variate microorganisme, care duc de obicei la mineralizarea lui în CO_2 şi H_2O.

Mecanismul biochimic al oxidării acizilor graşi şi mai cu seamă fenomenul de beta-oxidare sînt însă în stadiul de ipoteze, deoarece în mediu nu se acumulează produşi intermediari ai degradării. In orice caz este clar că substanţele grase ca şi ceridele şi alţi compuşi apropiaţi sînt descompuse lent pînă la CO_2 şi H_2O, care reintră în circuitul substanţelor nutritive în natură.

Oxidarea hidrocarburilor din seria alifatică

Hidrocarburile sînt substanţe toxice pentru majoritatea microorganismelor. Ele se acumulează în sol ca rezultat al degradării unei serii de substanţe, mai cu seamă din seria grasă. Prin urmare, descompunerea lor prezintă o mare importanţă pentru desfăşurarea normală a fenomenelor biologice din sol. Incă în anul 1906, M.L. S ö h n g e n semnalează specia Methanomonas methanica care oxidează metanul pînă la CO_2 şi H_2O.

Mai tîrziu s-au descoperit şi alte specii: Bacillus pyocyaneus (N.L. S ö h n g e n, 1907), B.fluorescens liquefaciens (P. A i y e r, 1920) şi B.hexacarbovorum (K.S t o r m e r, 1907), ultimul fiind capabil să descompună şi omologi ai benzenului.

Propanul este descompus de specia Pseudomonas propanica (M. D o s t a l e k, 1954). Aceste microorganisme specializate, descompunînd hidrocarburile, eliberează CO_2 şi H_2O, iar ca produşi intermediari formează alcooli, acizi organici şi hidrocarburi nesaturate, pe care în unele

cazuri le pot utiliza la constituirea propriului lor corp. In orice caz energia rezultată în aceste procese de oxidare este utilizată în procesele fiziologice ale microorganismelor. Alte bacterii care au capacitatea de a oxida hidrocarburile parafinice aparţin genului Mycobacterium (fig.66) (Mycobacterium album, M.rubrum, M.luteum), precum şi Bacterium fluorescens şi B.alyphaticum.

Fig.66. Mycobacterium - specie care oxidează hidrocarburi. (După M. V. Fedorov).

Dintre ciuperci, unele specii de Penicillium oxidează energic parafinele. Toate aceste specii se dezvoltă bine pe medii care conţin hidrocarburi. In cazul oxidării etanului, procesul de bază este probabil dehidrogenarea oxidativă a etanului, cînd se formează ca produs intermediar etilenul. Acesta poate fi oxidat mai departe într-o serie de stadii intermediare (alcool etilic, acid acetic, acid oxalic) pînă la CO_2 şi H_2O. Global, procesul decurge după următoarea ecuaţie:

$$CH_3-CH_3+3\ 1/2\ O_2 \longrightarrow 2CO_2+3H_2O+ x\ kcal.$$

Produşii intermediari amintiţi au fost constataţi în mediile de cultură ale acestor bacterii. Asemenea bacterii prezintă şi un interes practic, deoarece dezvoltîndu-se intens în solurile care conţin multe hidrocarburi, pot indica existenţa zăcămintelor de gaze naturale.

Schema generală a oxidării hidrocarburilor stabilită pe baza a numeroase date experimentale pare să fie următoarea: hidrocarburi saturate ⟶ hidrocarburi nesaturate ⟶ alcooli superiori ⟶ cetoderivaţi ⟶ acizi graşi ⟶ CO_2 şi H_2O. Toate aceste procese de oxidare decurg intens şi complet în prezenţa oxigenului atmosferic. In lipsa acestuia, intensitatea proceselor scade, limitîndu-se la prezenţa în mediu a altor acceptori de hidrogen, ca azotaţii sau sulfaţii.

Oxidarea hidrocarburilor din seria aromatică

Hidrocarburile aromatice care ajung sau se formează în sol au o acţiune sterilizantă asupra solului, ceea ce ar putea duce la dezechilibrarea proceselor microbiologice din sol. Aceste hidrocarburi, precum şi

derivaţii lor sînt oxidaţi pînă la CO_2 şi H_2O de către bacterii specifice. Astfel, încă în anul 1913, L.N. S ö h n g e n găseşte un număr de 50 000 - 200 000 pe gramul de sol specii, ca: Bacterium fluorescens lignefaciens şi nonlignefaciens, B.pyocyaneum, B.lipolyticum α, β, γ şi δ, Micrococcus paraffinae. Diferite specii de Pseudomonas şi Mycobacterium metabolizează în special toluenul, xilenul şi benzenul, iar specia Rhodopseudomonas issatchenkoi a fost descrisă de L.K. O s n i t z k a i a (1955), într-o regiune petroliferă, la o adîncime de 1 300 m. Hidrocarburile naftalenice şi cicloparafinice sînt oxidate mai ales de Bacterium aliphaticum liquefaciens.

Procesul decurge intens dacă procentul de hidrocarburi ciclice din sol nu depăşeşte 0,01%. Toate aceste microorganisme utilizează hidrocarburile ca unică sursă de carbon. Procesul se desfăşoară numai în prezenţa oxigenului atmosferic şi duce la formarea CO_2 şi H_2O. De obicei, în mediile de cultură cu hidrocarburi aromatice, pe cale de oxidare, nu se acumulează produşi intermediari. W.O. T o w s s o n a stabilit că în cazul omologilor hidrocarburilor aromatice, este atacată mai întîi catena laterală şi apoi nucleul central. O altă serie de microorganisme pot descompune derivaţii aromatici foarte toxici folosiţi de regulă ca antiseptici, ca, de exemplu, aldehide, alcooli sau acizi aromatici. Printre aceste microorganisme se pot cita Bacterium phenoli, Mycoplana bulata (fig. 67) şi diferite specii de ciuperci, ca Aspergillus şi Penicillium (W.O. T a n s s o n, 1925). Oxidarea acestor compuşi aromatici are numeroase trăsături comune cu oxidarea hidrocarburilor aromatice: oxidarea decurge pînă la CO_2 şi H_2O, fără acumulare de produşi intermediari; este atacată mai întîi catena laterală şi apoi nucleul central; substanţele degradate folosesc ca sursă de carbon pentru microorganismele atacante; procesul are loc numai la concentraţii mici de antiseptic (0,01-0,1%).

Fig. 67. Mycoplana bullata - cultură pură. (După M.V. Fedorov).

Oxidarea hidrogenului

In soluri, hidrogenul se formează în cantităţi mari în urma a numeroase procese, mai cu seamă fermentative (hidraţi de carbon, substanţe

pectice, acizi organici, proteine); totuşi atît în aer cît şi în sol procentul de hidrogen este aproape neglijabil, deoarece el este oxidat de o serie de bacterii pînă la apă. Bacteriile hidrogenice sînt răspîndite aproape în toate solurile. Pentru toate aceste bacterii hidrogenice, oxidarea hidrogenului molecular reprezintă sursa de energie necesară proceselor vitale intracelulare. Totodată, hidrogenul este utilizat de către bacteriile hidrogenice şi pentru reducerea CO_2, ceea ce duce direct la sinteza de substanţe organice necesare constituirii corpului celular. Dintre bacteriile hidrogenice se cunosc: Hydrogenomonas pantotropha, bacil aerob, nesporulat, de 1,2-1,5 microni, iar Carboxydomonas oligocarbophila este asemănător cu precedentul. Ambii se dezvoltă atît pe medii minerale cît şi organice, utilizînd carbonul atît din CO_2 cît şi din substanţele organice. Bacillus hydrogenes este chimioautotrof, obţinînd energia necesară proceselor vitale exclusiv prin oxidarea hidrogenului molecular. O particularitate importantă a acestei bacterii este capacitatea de a fixa azot molecular cu un randament mic (0,13 mg la 500 ml mediu). Pentru oxidarea hidrogenului molecular, Bacillus hydrogenes poate folosi şi oxigenul din nitraţi şi sulfaţi, executînd un proces de denitrificare specifică şi de reducere a sulfaţilor la H_2S. De asemenea, poate reduce CO_2 pînă la apă şi metan cu ajutorul hidrogenului molecular:

$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O + x \text{ kcal}.$$

Se presupune că pe această cale ar putea participa la formarea petrolului şi gazelor naturale.

Sinteza substanţei organice bazate pe oxidarea hidrogenului decurge probabil independent şi paralel cu oxidarea hidrogenului la apă, după ecuaţiile:

$$2H_2 + O_2 \longrightarrow 2H_2O + 138 \text{ kcal}$$

$$H_2CO_3 + 2H_2 + x \text{ kcal} \longrightarrow 1/6\ C_6H_{12}O_6 + 2H_2O.$$

Desigur, procesul de sinteză a substanţei organice nu decurge simplu ca în ecuaţia de mai sus, ci la el participă biocatalizatori dintre cei mai puternici şi variaţi, inclusiv legăturile macroergice ale acidului adenozintrifosforic.

Ciclul biologic al carbonului în natură

Prin descompunerea resturilor organice în cursul proceselor descrise, combinaţiile complexe ale carbonului sînt transformate în cele din urmă în CO_2 şi H_2O.

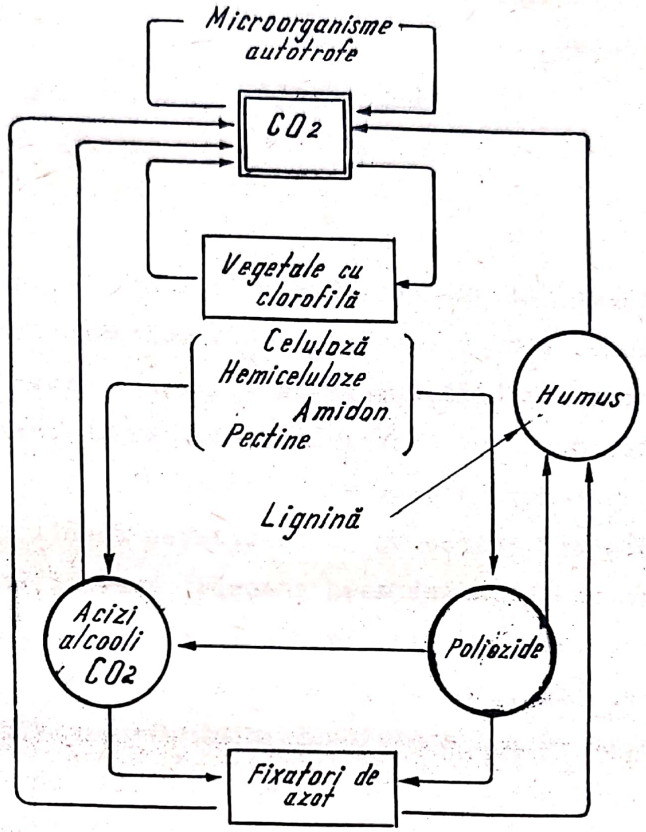


Fig.68.

Bioxidul de carbon este eliberat în atmosferă, şi prin procesul de fotosinteză redevine substanţă organică complexă, care reia ciclul de transformări. Toate procesele biosintetice şi de degradare sub acţiunea microorganismelor încheie ciclul biologic al carbonului în natură, care este prezentat schematic în figura 68.

Din descrierea proceselor microbiologice de descompunere a substanţelor organice rezultă că transformările compuşilor carbonului sînt însoţite şi de procese de sinteză a unor compuşi complecşi, iar anumite microorganisme specifice (fixatorii de azot molecular) stabilesc legătura între ciclul carbonului şi azotului. Aceste fapte, deşi complică într-o oarecare măsură ciclul carbonului, nu modifică esenţial schema generală a circuitului, care constă din procese de sinteză a compuşilor organici complecşi şi din procese de mineralizare a lor pînă la CO_2.

Capitolul IX

DESCOMPUNEREA SUBSTANŢELOR ORGANICE AZOTATE

In masa solului, azotul se găseşte în special sub forme neutilizabile de către plantele superioare . Azotul molecular care se găseşte în atmosfera solului în cantităţi mari intră în circuitul biologic numai după ce este fixat de către bacterii specifice sub formă de proteine care constituie corpul lor. Azotul organic constituie marea majoritate a azotului total din sol (circa 99%). Cantitatea absolută de azot din sol este, de asemenea, mare. Numai masa corpului bacteriilor se ridică la circa 6 tone pe hectar, iar dacă se adaugă şi alte organisme, ca ciuperci, protozoare, alge, insecte, viermi etc., se ajunge la peste 2o tone. La aceasta se adaugă azotul humusului elaborat în însăşi masa solului. Toată această enormă cantitate de azot este inutilizabilă de către plante, deoarece metabolismul vegetal foloseşte azotul anorganic,mai cu seamă cel nitric. Datorită activităţii a numeroase bacterii, actinomicete şi ciuperci, azotul organic este mineralizat treptat şi pus la dispoziţia plantelor superioare. Aceste microorganisme exercită o acţiune foarte complexă şi importantă - putrefacţia - în urma căreia din substanţele organice azotate din sol se eliberează: NH_3, CO_2, H_2S, H_2SO_4 etc., compuşi minerali accesibili plantelor. Ulterior, amoniacul este oxidat la azotaţi, care sînt cea mai bună sursă minerală de azot pentru plante. Studiul procesului de putrefacţie, extrem de important din punct de vedere teoretic şi agricol, este foarte complex, deoarece compuşii azotaţi care ajung în sol sînt de natură chimică foarte variată (proteine, amide, baze purinice şi pirimidinice, zaharuri aminate), fiecare cu un chimism particular în cursul mineralizării. Aceste substanţe sînt însoţite de proporţii diferite de celuloză, hemiceluloze,pectine , care influenţează profund procesul de putrefacţie. Procesul de putrefacţie a proteinelor cuprinde următoarele faze: 1. hidroliza pînă la peptide şi

aminoacizi; 2. dezaminarea aminoacizilor; 3. metabolizarea produşilor dezamînării, care are loc prin decarboxilări, reduceri, oxidări. Din punct de vedere microbiologic, mai importante sînt primele două faze, în urma cărora se eliberează amoniac şi care sînt reunite sub denumirea de amonificare.

AMONIFICAREA SUBSTANŢELOR PROTEICE

O dată cu substanţele organice neazotate, sînt degradate şi substanţele proteice care intră în compoziţia tuturor celulelor. Substanţele proteice pătrund în sol în cantităţi importante o dată cu resturile vegetale şi animale. Aceşti compuşi sînt foarte bogaţi în azot (pînă la 16%), de aceea descompunerea lor în sol are o mare importanţă pentru dezvoltarea plantelor verzi. La descompunerea substanţelor proteice iau parte diferite microorganisme, care au fost numite amonificatoare. Ele sînt foarte răspîndite în natură şi provoacă descompunerea substanţelor proteice din cadavrele animalelor şi din resturile plantelor, în toate solurile şi bazinele de apă ale globului terestru. În grupa biologică a microorganismelor amonificatoare intră reprezentanţi a variate grupe taxonomice, ca mucegaiuri, actinomicete, dar mai cu seamă bacterii aerobe şi anaerobe. Cele mai active bacterii care participă la descompunerea substanţelor proteice sînt următoarele: Proteus vulgaris (fig.69) datorită faptului că îşi schimbă forma şi dimensiunile prin dezvoltarea pe medii nutritive de compoziţie diferită. Este un bacil mic (0,5-1 x 1 - 5 microni), nesporulat, aerob şi facultativ anaerob, cu flageli peritrihi, iar unele varietăţi lichefiază gelatina. În urma activităţii amonificatoare a bacteriei Proteus vulgaris se eliberează mult H_2S, indol, iar în prezenţa glucidelor se eliberează şi CO_2 şi H_2. Bacillus putrificus este o bacterie amonificatoare anaerobă şi formează spori la unul din capete.

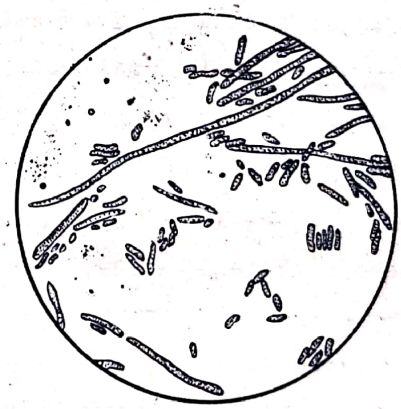


Fig.69. Proteus vulgaris - bacili de diferite lungimi (după M.F.Fedorov).

Cilii sînt aşezaţi peritrih. Se dezvoltă numai în condiţii strict anaerobe, nu are capacitatea de a fermenta hidraţii de carbon, dar poate descompune grăsimi. Acesta este unul din agenţii cei mai răspîndiţi şi energici ai descompunerii substanţelor proteice. Bacillus sporogenes este tot un agent anaerob al descompunerii substanţelor proteice în urma activităţii căruia se formează mult H_2S. Are şi capacitatea de a fermenta hidraţi de carbon. Este mult răspîndit în sol şi gunoiul de grajd. Are aspectul unui bacil mic cu spori ovali (fig.7o). În afară de aceste bacterii care descompun substanţele proteice şi care se dezvoltă în condiţii facultativ anaerobe şi strict anaerobe, se mai cunoaşte o altă serie de bacterii care se dezvoltă bine în condiţii aerobe. Astfel, Bacterium putidum este un bacil mic (2,o x 5,o microni), deseori unit în lanţuri lungi, cu 2 flageli; se dezvoltă bine în condiţii aerobe, la temperatura de 25-3o°C. Bacterium prodigiosum elimină un pigment roşu care colorează mediul ambiant. Bacillus mycoides, bacil mic (1,6-3,6 microni), formează spori ovali de dimensiuni variabile, avînd cili peritrihi. Denumirea de mycoides este legată de forma foarte caracteristică a coloniilor pe care această bacterie le formează pe medii nutritive solide. Aceste colonii sînt ramificate asemănător cu miceliile ciupercilor. Nu eliberează H_2S. Bacillus mesentericus şi Bacillus megaterium ca formă exterioară seamănă cu Bacillus mycoides, dar formează spori rotunzi. Sînt bacterii strict aerobe care eliberează în urma proteolizei H_2S. Bacterium fluorescens este un bacil mobil, nesporulat, Gram pozitiv, iar în cursul dezvoltării pe peptonă produce H_2S. În cazul unei cantităţi insuficiente de acid fosforic în mediu, această bacterie formează o cantitate mare de pigment verzui. Escherichia coli. Este un bacil mobil, mic (2-4 microni), polimorf (se cunosc aproximativ 25o de varietăţi). Pe lîngă bacterii, la descompunerea proteinelor participă activ şi multe actinomicete şi mucegaiuri. Din ultimul grup de organisme se indică diferite specii de Aspergillus, Botrytis, Trichoderma koningi şi alte forme. Microorganismele care descompun substanţele proteice cu formare de amoniac, în funcţie de condiţiile de sol, prezintă o activitate diferită. Dacă se introduce în sol sînge uscat de animale şi se inoculează solul cu culturi pure de diferite bac-

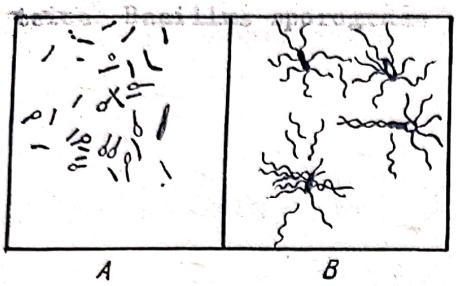


Fig.7o. Bacillus sporogenes: A- celule cu spori; B- celule cu cili coloraţi. (După M.V.Fedorov).

terii amonificatoare, atunci gradul de mineralizare a azotului din acest îngrăşămînt organic va fi diferit pentru diferitele bacterii amonificatoare. Astfel, în acelaşi interval de timp, Proteus vulgaris transformă în amoniac de 24,35% din azotul făinii de sînge, Bacterium putidum, 19,4%, Bacillus subtilis, 16,06%, iar Bacillus mycoides, 11,38%. Cantitatea de amoniac acumulată în mediul de cultură a unei ciuperci amonifi - catoare este direct proporţională cu cantitatea de acizi organici pe care-i formează ciuperca respec - tivă, deoarece amoniacul este reţinut în sol în urma combinării lui cu acizii organici.

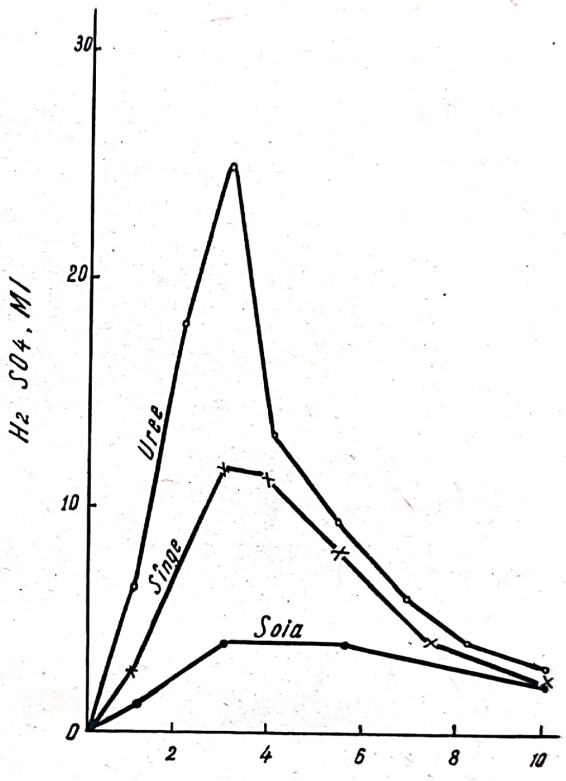


Fig.71. Dinamica amonificării diferitelor substrate proteice. (După J.Pochon şi H. de Barjac).

Condiţiile amonificării substanţelor proteice în sol. Tehnica studierii dinamicii amonificării constă în introducerea în sol a unei cantităţi determinate de substanţe proteice (cel mai frecvent făină de sînge) şi urmărirea la intervale regulate de timp a degajării amoniacului. În funcţie de anumite condiţii create în solul cercetat, se pot trasa curbe care exprimă intensitatea proce - sului de amonificare şi variaţiile acestei intensităţi în decursul timpului. Dacă într-un sol cu 25% umiditate, ţinut într-o etuvă la 28°C, se adaugă 1% praf de sînge, se constată că în primele 3-5 zile, intensitatea amonificării creşte destul de repede atingînd un maxim spre a 5-a zi, care se menţine un timp oarecare. Urmează o scădere a intensităţii amonificării, care se prelungeşte pînă la 10-20 zile (fig.71). Din această curbă reiese că amonificarea este un fenomen progresiv şi că în anumite condiţii, o parte din amoniacul eliberat trece în atmosferă, fiind pierdut pentru sol. Intensitatea amonificării mai este influenţată şi de procentul de resturi proteice din sol. Dacă în condiţiile descrise se introduce în sol 0,2% făină de sînge, amonificarea se încheie în circa 10 zile. La un procent mai mare de circa 2% făină de sînge în acelaşi interval se amonifică numai 50% din sub-

stanţa proteică. Procesul este probabil aerob, deoarece la saturarea solului cu apă, amonificarea este foarte redusă. Intensitatea procesului de amonificare mai este influenţată şi de conţinutul de glucide al solului (introduse experimental) şi al resturilor vegetale. Astfel, lucrîndu-se cu făină de soia, care procentual conţine mai mulţi hidraţi de carbon decît făina de sînge, se constată că eliberarea de amoniac este mai mică şi de o durată mai mare, aşa cum reiese din aceeaşi diagramă. Dacă se dozează pe lîngă amoniacul eliberat şi azotul proteic metabolizat şi fixat în sol, fizico-chimic sau biologic, se constată că, cu cît raportul C/N este mai mic, cu atît randamentul amonificării este mai mare (randamentul amonificării este raportul între amoniacul eliberat şi azotul metabolizat, de exemplu, în cazul unui ţesut vegetal care conţine 1,1% azot, randamentul amonificării este 2,8%, iar pentru un ţesut care conţine 6% azot, acest randament atinge 5o%). Acelaşi lucru îl dovedesc şi lucrările lui L i p m a n, care a adăugat la loo g sol cîte 155 mg făină de sînge şi cantităţi variabile de amidon sau zaharoză. Se constată că, cu cît creşte cantitatea de glucide, cu atît cantitatea de amoniac degajat scade. Această influenţă remarcabilă a prezenţei hidraţilor de carbon asupra dinamicii amonificării constă nu atît în frînarea degradării proteinelor, ci într-o reutilizare a amoniacului eliberat prin dezaminări în procesele de proteosinteză care au loc în corpul microorganismelor amonificatoare. Trebuie precizat că amoniacul degajat în atmosferă este numai diferenţa între amoniacul realmente eliberat şi cel reutilizat în proteosinteză bacteriană. Aşa se explică faptul că resturile vegetale tinere bogate în proteine în cursul amonificării degajă mult amoniac, epuizîndu-se repede, în timp ce plantele bătrîne cu ţesuturile puternic lignificate vor fi atacate lent cu o neînsemnată şi prelungită degajare de amoniac.

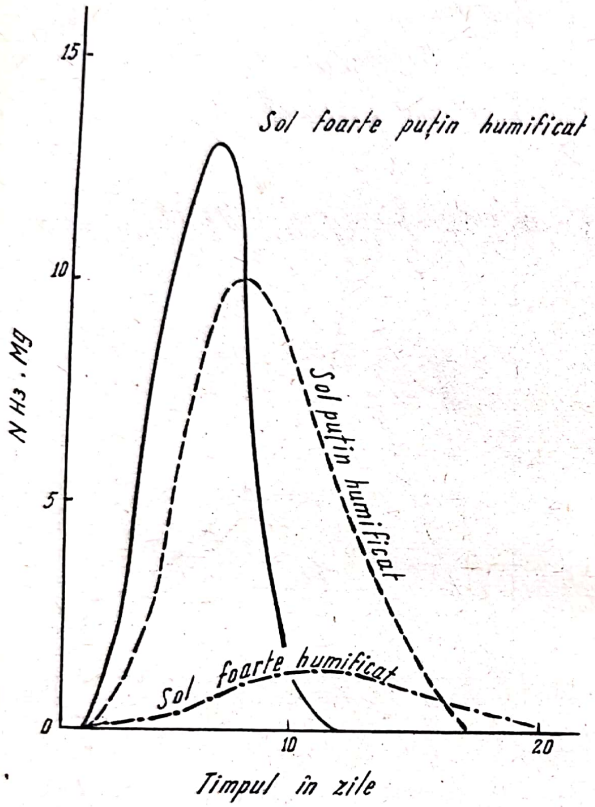


Fig.72. Amonificarea în funcţie de conţinutul de humus în diferite soluri (în prezenţa făinii de sînge). (După J.Pochon şi H. de Barjac.)

Conţinutul în humus al solului influenţează procesul de amonificare printr-un mecanism asemănător cu influenţa hidraţilor de carbon, în special prin raportul C/N. S-a experimentat cu o serie de soluri nisipoase de aceeaşi natură, dar diferite prin conţinutul în humus. Rezultatele sînt expuse în diagrama din figura 72, care ilustrează clar că în solurile puternic humificate, degajarea de amoniac este foarte redusă, deoarece în cea mai mare parte, acesta este reţinut în sol, adică fixat chimic şi reutilizat biologic. După cum reiese din diagramă, în solurile foarte puţin humificate, mersul amonificării este invers, adică degajarea de amoniac este extrem de intensă, reţinerea lui în sol probabil foarte redusă, iar procesul decurge foarte rapid.

Chimismul amonificării. Acţiunea bacteriilor asupra moleculei de substanţă proteică începe cu procesul de hidroliză, care se realizează prin intermediul unor fermenţi proteolitici eliberaţi în mediu, numiţi exoproteaze. Exoproteazele sînt produse de toate bacteriile care lichefiază gelatina. Formele care nu posedă astfel de fermenţi pot utiliza numai produşi de hidroliză de tipul polipeptidelor şi aminoacizilor. Degradarea moleculei de substanţe proteice sub acţiunea proteazelor se poate exprima prin schema:

$$\text{proteină} \xrightarrow{+nH_2O} \text{peptone} \xrightarrow{+nH_2O} \text{peptide} \xrightarrow{+nH_2O} \text{aminoacizi.}$$

Aminoacizii pătrund în interiorul celulei microbiene unde suferă transformările ulterioare. Primul atac enzimatic asupra aminoacizilor pătrunşi în celulele microbiene este dezaminarea lor care în funcţie de condiţiile de mediu decurge diferit, rezultînd produşi finali variaţi. Se cunosc următoarele tipuri de dezaminare:

Dezaminarea oxidativă se petrece cu participarea oxigenului şi sub acţiunea unor oxidaze specifice. Se eliberează amoniac, iar cetoacidul care rezultă în urma dezaminării trece mai departe într-un oxiacid sau aldehidă.

$$\underset{\text{aminoacid}}{R\text{-}CHNH_2\text{-}COOH} \xrightarrow{+1/2\ O_2} \underset{\text{cetoacid}}{R\text{-}CO\text{-}COOH} + NH_3$$

Dezaminarea hidrolitică se desfăşoară cu participarea unei molecule de apă, rezultînd oxiacizi, iar prin decarboxilarea lor, alcooli primari. Se eliberează amoniac, iar uneori şi CO_2.

$$R\text{-}CHNH_2\text{-}COOH \xrightarrow{+H_2O} R\text{-}CHOH\text{-}COOH + NH_3 \quad (1)$$

oxiacid

$$R\text{-}CHNH_2\text{-}COOH \xrightarrow{+H_2O} R\text{-}CH_2OH + CO_2 + NH_3. \quad (2)$$

alcool primar

Acest tip de dezaminare este destul de caracteristic bacteriei Proteus vulgaris.

Dezaminarea reductivă are loc cu participarea hidrogenului, desfăşurîndu-se în condiţii anaerobe, în special sub acţiunea bacteriei Bacillus putrificus. Ca rezultat se eliberează amoniac şi se acumulează în mediu acidul organic corespunzător. Uneori, acidul organic poate fi decarboxilat, obţinîndu-se o hidrocarbură. Schema generală a dezaminării reductive este:

$$R\text{-}CHNH_2\text{-}COOH \xrightarrow{+2H^+} \underset{\text{acid organic}}{R\text{-}CH_2\text{-}COOH} + NH_3 \longrightarrow \underset{\text{hidrocarbură}}{R\text{-}CH_3} + CO_2 + NH_3.$$

In felul acesta, Bacillus putrificus reduce alanina în acid propionic şi amoniac, iar prin decarboxilare ulterioară se obţin etan, CO_2 şi NH_3.

$$\underset{\text{alanină}}{CH_3\text{-}CHNH_2COOH} \xrightarrow{2H^+} \underset{\text{acid propionic}}{CH_3\text{-}CH_2\text{-}COOH} + NH_3 \longrightarrow CH_3\text{-}CH_3 + CO_2 + NH_3.$$

Acizii aminici dicarbonici suferă transformări asemănătoare în cazul dezaminării reductive. In acest caz se obţin acizi graşi, CO_2 şi NH_3.

$$\underset{\text{acid aspartic}}{\begin{matrix}CH_2\text{-}COOH\\ |\\ CHNH_2COOH\end{matrix}} \xrightarrow{2H^+} \underset{\text{acid propionic}}{\begin{matrix}CH_3\\ |\\ CH_2\text{-}COOH\end{matrix}} + CO_2 + NH_3.$$

Dezaminarea cu formare de acizi nesaturați. Unii aminoacizi în condiții anaerobe se dezaminează prin eliminarea directă a amoniacului din gruparea $-NH_2$ și un atom de hidrogen de la gruparea metilenică alătură - tă. In cazul acesta se formează un acid organic nesaturat. Procesul se petrece după următoarea schemă:

$$R-CH_2-CH(NH_2)-COOH \longrightarrow R-CH=CH-COOH + NH_3$$

acid nesaturat

După această schemă se dezaminează în condiții facultativ anaerobe acidul aspartic, rezultînd acid fumaric și amoniac.

$$CH_2(CH_2NH_2-COOH)-COOH \longrightarrow CH(CH-COOH)=CH-COOH + NH_3$$

acid aspartic — acid fumaric

Formarea de acid fumaric în mediile de cultură ale bacteriilor facultativ anaerobe se observă frecvent. Bacteriile aerobe nu formează acid fumaric, iar dacă îl formează, el este repede oxidat. In cazul bacteriilor obligat anaerobe, acidul fumaric nu se acumulează, deoarece este transformat în produși mai simpli.

Dezaminarea cu formare de hidrogen. Unii aminoacizi, cum sînt cistina, acidul glutamic, sub acțiunea unor bacterii anaerobe se dezaminează, cu eliberare de hidrogen, după schema:

$$S-CH_2-CHNH_2-COOH \;\; | \;\; S-CH_2-CHNH_2-COOH + 2H^+ + 4H_2O \longrightarrow 2CH_3COOH + 2H-COOH + 2H_2S + 2NH_3 \quad (1,a)$$

cistină — acid formic

$$2H-COOH \longrightarrow 2CO_2 + 2H_2 \quad (1,b)$$

$$CH_2(CH_2-COOH)-CHNH_2-COOH \xrightarrow{+6H_2O} 6CH_3-COOH + 2CH_3-CH_2-CH_2-COOH + 5CO_2 + H_2 + 5NH_3$$

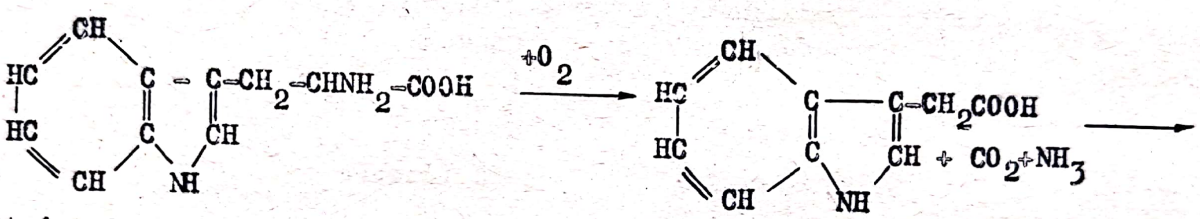
acid glutamic

Pe lîngă importanța generală în procesul de mineralizare a substanțelor organice, dezaminările mai prezintă importanță pentru însăși bacte-

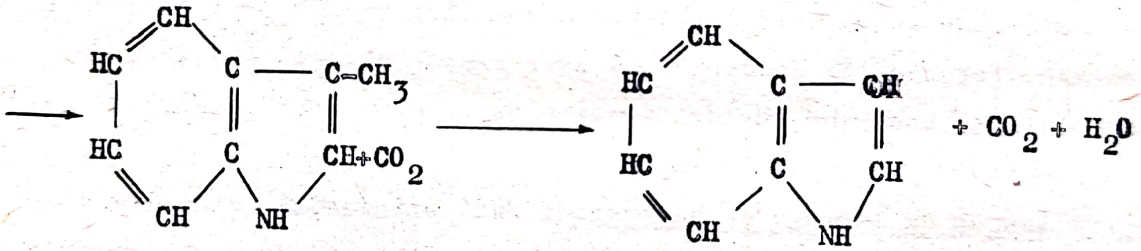
riile amonificatoare, pentru că reprezintă o bună sursă de substanţe şi de energie necesară dezvoltării lor.

Aminoacizii aromatici rezultaţi din hidroliza proteinelor suferă procese de dezaminare de aceleaşi tipuri cu aminoacizii alifatici. In acest caz este atacată mai întîi catena laterală şi apoi este descompus nucleul central aromatic. Din grupa acestor aminoacizi mai complecşi, merită atenţie deosebită fenilalanina şi triptofanul, deoarece în urma descompunerii lor se formează produşi caracteristici ai putrefacţiei substanţelor proteice. Din fenilalanină se obţine acidul benzoic, din tirozină, fenolul, iar din triptofan, scatol şi indol.

Dezaminarea triptofanului decurge după următoarea schemă:

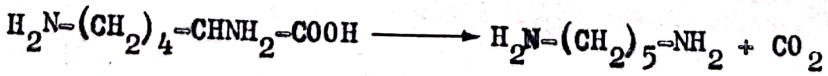


triptofan — acid indolacetic



scatol — indol

Diaminoacizii în condiţii anaerobe mai întîi se decarboxilează, rezultînd diamine cu miros neplăcut, care sînt descompuse ulterior:



lizină — cadaverină

In urma tuturor proceselor descrise mai sus se acumulează în solurile în care acţionează bacterii amonificatoare produşi diferiţi de descompunere a substanţelor proteice, care pot servi ca materiale nutritive şi substanţe de creştere, atît pentru microorganisme cît şi pentru plantele superioare care cresc pe solurile respective.

Descompunerea chitinei

Chitina este o substanţă organică, în special de origine animală, constituind scheletul extern al insectelor. Ea intră şi în compoziţia unor membrane celulare vegetale, cum este cazul la ciuperci. In condiţii nefavorabile dezvoltării microorganismelor, chitina se dovedeşte o substanţă foarte stabilă (în cărbunii din miocenul superior, chitina s-a păstrat intactă aproximativ 25 milioane de ani). Totuşi din sol s-au izolat bacterii care în condiţii favorabile descompun chitina la fel de repede ca şi alţi compuşi azotaţi. Aşa este Beneckea chitinovora (Bacillus chitinovorus), un bacil nesporulat. Din punct de vedere chimic, chitina este un polimer înalt al monoacetilglucozaminei. In urma activităţii bacteriilor chitinolitice, chitina este descompusă mai întîi în glucozamină, iar în final, în CO_2, H_2O şi NH_3. Capacitatea de a descompune chitina o au şi numeroase actinomicete. După datele lui C. J e u n i a u x (1955), 98% din tulpinile de Streptomyces pot descompune chitina.

Fazele chimice ale degradării chitinei, după ultimele date din literatură, sînt: hidroliza şi oxidarea produşilor de hidroliză. Chitinaza, enzima care catalizează degradarea chitinei este o exoenzimă hidrolitică care acţionează după reacţia:

$$(C_{32}H_{54}N_4O_{21})_x + 2xH_2O \longrightarrow (C_{28}H_{50}N_4O_{19})_x + 2x\,CH_3COOH \quad (1)$$

chitină — chitinozan

Mai departe, chitinozanul este hidrolizat de aceeaşi enzimă în modul următor:

$$C_{28}H_{50}N_4O_{19} + 3H_2O \longrightarrow 2C_6H_{11}O_5(NHCO{-}CH_3) + 2C_6H_{11}O_5NH_2 \quad (2)$$

chitinozan — acetilglucozamină — glucozamină

$$2C_6H_{11}O_5(NHCO{-}CH_3) + 2H_2O \longrightarrow 2C_6H_{11}O_5{-}NH_2 + 2CH_3COOH \quad (3)$$

acetilglucozamină — glucozamină — acid acetic

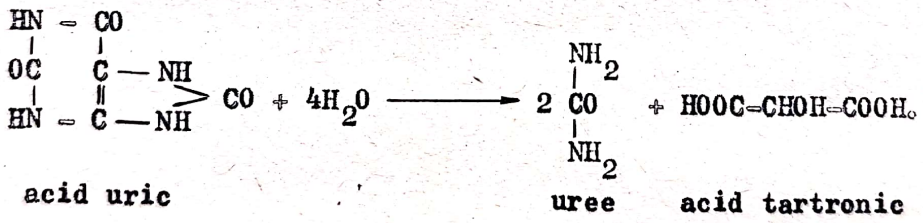
$$4C_6H_{11}O_5{-}NH_2 + 4H_2O \longrightarrow 4C_6H_{12}O_6 + 4NH_3 \quad (4)$$

glucozamină — glucoză

După cum reiese din formulele prezentate în urma descompunerii chitinei, se obţin compuşi solubili, ca glucoză, amoniac şi acid acetic. Aceşti produşi finali intră în alte procese microbiologice, respectiv amoniacul este metabolizat de bacteriile nitrificatoare, glucoza este fermentată de bacteriile butirice, iar acidul acetic este oxidat de diferite microorganisme pînă la CO_2 şi H_2O. Pe de altă parte, aceşti produşi finali pot fi folosiţi de înseşi bacteriile chitinolitice, ca surse de carbon şi azot. In general, procesul de descompunere a chitinei decurge relativ repede, iar elementele componente, respectiv carbonul şi azotul, reintră în circuitul biologic.

AMONIFICAREA ACIDULUI URIC ŞI HIPURIC

Urobacteriile iau parte însemnată la hidroliza produselor de descompunere a acidului uric ce se găseşte în cantităţi mici (0,04%) în urina animalelor şi care pătrunde în sol o dată cu ureea. Acidul uric este descompus de o serie de bacterii aerobe şi anaerobe care îl utilizează ca sursă de carbon şi azot, sau numai de azot. După unele date, acidul uric se descompune la început în uree şi acid tartronic după ecuaţia:



acid uric — uree — acid tartronic

Din grupul de bacterii care descompun acidul uric, în condiţii anaerobe, se cunosc Clostridium acidi urici (Bacillus acidi urici), iar dintre bacteriile care descompun acidul uric în condiţii aerobe se pot cita Proteus vulgare, Bacterium fluorescens. Ureea rezultată, precum şi acidul tartronic obţinut servesc acestor bacterii atît ca sursă de carbon cît şi ca sursă de azot. In afară de aceasta, ureea care se formează în cursul acestei hidrolize este utilizată de o serie de alte bacterii din sol ca sursă de azot, de aceea probabil acidul uric nu se acumulează în sol în cantităţi sesizabile. Oxidarea completă a acidului uric decurge după următoarea formulă:

$$C_5H_4N_4O_3 + 8H_2O + 1\frac{1}{2}O_2 \longrightarrow 4NH_4\text{-}HCO_3 + CO_2.$$

acid uric

Fenomene analoge au loc şi la oxidarea acidului hipuric de către bacterii şi ciuperci. In cursul scindării hidrolitice se formează acid benzoic şi glicocol, după ecuaţia:

$$C_6H_5CO\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}COOH + H_2O \longrightarrow C_6H_5\text{-}COOH + NH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH$$

acid hipuric — acid benzoic — glicocol

Acidul benzoic este descompus mai departe după schema indicată la descompunerea hidrocarburilor aromatice şi a derivaţilor lor, folosind aceste microorganisme ca sursă de azot. Glicocolul rezultat în cursul acestor oxidări este utilizat de numeroase microorganisme fie ca atare, fie după dezaminarea lui hidrolitică, cînd se formează acidul glicocolic:

$$H_2N\text{-}CH_2\text{-}COOH + H_2O \longrightarrow CH_2OH\text{-}COOH + NH_3.$$

glicocol — acid glicolic

Amoniacul rezultat din această dezaminare poate servi diferitelor microorganisme în procesul de proteosinteză primară. In amonificarea acizilor uric şi hipuric participă urobacterii, ca Micrococcus ureae şi alte bacterii, ca Bacterium mesentericus .

HIDROLIZA UREEI

Microorganismele specifice care descompun ureea aparţin la diferite forme de bacterii: coci, sarcini, bacili. Dintre aceste microorganisme, cele mai importante sînt următoarele forme: Bacillus probatus (fig.73), bacil ciliat peritrih, sporulat, foarte răspîndit în natură. Descompune într-un litru de soluţie pînă la 140 g de uree. Asemănător cu acestea mai sînt încă două forme: Urobacterium leubii şi Urobacterium miquelii care manifestă activitate mai redusă. Planosarcina ureae (fig. 74), celulele sferice din grupul sarcinilor mobile care în cursul pro-

cesului de diviziune se dispun în pachete mici. Această formă este mai puţin activă, descompune totuşi la un litru de soluţie nutritivă pînă la 30 g de uree. Micrococcus ureae, formă sferică care descompune relativ încet

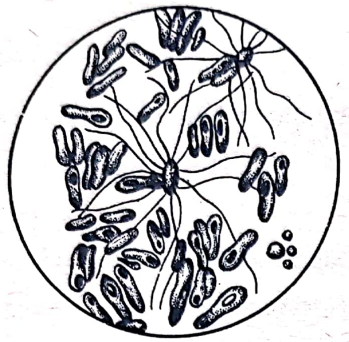


Fig. 73. Bacillus probatus sporulat. (După M. V. Fedorov).

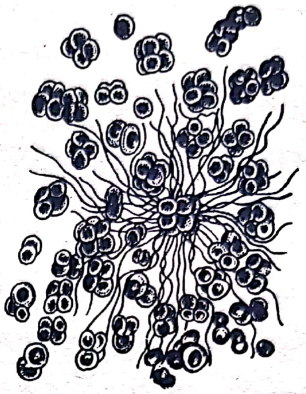


Fig. 74. Planosarcina ureae. (După M. V. Fedorov).

ureea. In bazine de apă şi mlaştini există, de asemenea, microorganisme care descompun destul de energic ureea. Dintre acestea se poate cita Urobacillus hesmogenes. In general, urobacteriile trăiesc în medii puternic alcaline, pH-ul minim necesar vieţii lor fiind 7, iar cel optim aproape 9. Această caracteristică este legată probabil de faptul că în mediul în care activează, se acumulează în mod constant amoniac ce produce o puternică reacţie alcalină la care aceste bacterii s-au adaptat în cursul evoluţiei lor filogenetice. Aceste condiţii au făcut ca bacteriile amintite să devină rezistente şi la cantităţi mici de amoniac liber, pe cînd alte bacterii încetează să se dezvolte chiar în prezenţa unor cantităţi infime de amoniac liber. Urobacteriile se pot înmulţi descompunînd activ ureea atît în condiţii aerobe cît şi în condiţii anaerobe. Ele utilizează ca surse de carbon mai ales sărurile acizilor organici cu carboni neoxidaţi (cum ar fi, acidul succinic, acetic) şi nu pot folosi carbonul din uree deoarece se găseşte într-o formă prea oxidată care se transformă prin hidroliză în CO_2. In afară de aceasta, urobacteriile mai utilizează ca sursă de carbon zaharurile simple şi complexe (monozaharide, dizaharide, dextrine şi amidon). Ca sursă de azot urobacteriile utilizează numai sărurile amoniacale şi amoniacul liber format prin propria lor activitate de descompunere a ureei. Chimismul hidrolizei ureei constă dintr-o simplă dezaminare - care se desfăşoară după următoarea ecuaţie:

$$\begin{matrix} H_2N \\ \diagdown \\ \quad CO \\ \diagup \\ H_2N \end{matrix} + 2H_2O \longrightarrow (NH_4)_2CO_3$$

Carbonatul de amoniu se descompune în amoniac, CO_2 şi H_2O:

$$(NH_4)_2CO_3 \longrightarrow 2NH_3 + CO_2 + H_2O$$

Hidroliza ureei se înfăptuieşte sub acţiunea unei enzime, numită urează. După părerea unor autori, ureaza este un exoferment, iar descompunerea ureei ar avea numai importanţă ecologică pentru bacterii, după alţi autori, ureaza ar fi endoferment şi în acest caz, hidroliza ureei ar avea pentru bacterii şi o importanţă fiziologică.

HIDROLIZA CIANAMIDEI DE CALCIU

Urobacteriile acţionează şi asupra cianamidei de calciu. Cianamida de calciu este un valoros îngrăşământ artificial care se obţine uşor în uzine în urma acţiunii azotului asupra carburii de calciu incandescente. Formula cianamidei de calciu este N≡C-N=Ca. Azotul conţinut în această substanţă ar fi absolut inaccesibil plantelor dacă cianamida de calciu n-ar suferi un proces de hidroliză executat de aceleaşi urobacterii. In primul rînd, cianamida de calciu în prezenţa şi cu participarea apei se transformă în cianamidă şi hidroxid de calciu după ecuaţia:

$$NC-NCa + 2H_2O \longrightarrow \underset{\text{cianamidă}}{NCNH_2} + Ca(OH)_2$$

Mai departe, cianamida cu încă o moleculă de apă se transformă în uree.

$$NC-NH_2 + H_2O \longrightarrow \underset{\text{uree}}{CO(NH_2)_2}$$

Pînă la acest punct, transformările cianamidei de calciu sînt de ordin pur chimic şi se petrec sub influenţa catalizatoare a diferitelor metale din sol (oxizi de calciu, mangan, fier). Ureea rezultată este supusă

acţiunii urobacteriilor şi suferă transformările descrise mai înainte. In cursul transformării cianamidei de calciu se formează produşi toxici pentru plante şi microfloră. Aceştia pot influenţa negativ atît urobacteriile cît şi bacteriile nitrificatoare. De aceea în practica agricolă cianamida de calciu se administrează în sol cu cel puţin două săptămîni înainte de însămînţare, timp în care se încheie tot ciclul de transformări ale cianamidei şi procesele microbiologice din sol se restabilesc.

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul X

OXIDAREA COMPUŞILOR MINERALI DIN SOL ŞI MICROORGANISMELE CARE PARTICIPĂ LA ACESTE PROCESE

NITRIFICAREA

Azotul amoniacal eliberat în urma procesului de amonificare este în parte reţinut de complexul adsorbtiv al solului, iar altă parte este oxidată de către anumite bacterii mai întîi în acid azotos şi apoi în acid azotic. Azotul nitric format prin acest proces de nitrificare este pentru plantele superioare o sursă mai bună de azot decît amoniul, dar pe de altă parte, nefiind adsorbit de coloizii solului, poate fi uşor levigat şi supus denitrificării. Agenţii biologici ai nitrificării au fost precizaţi pentru prima dată de S.N.Vinogradski. Pînă la cercetările

Fig.75. Nitrosomonas:
1- varietatea a; 2- verietatea b; 3- varietatea c. (După M.V.Fedorov.)

lui Vinogradski se presupunea că nitrificarea este produsă de o singură specie de microorganisme care oxidează sărurile amoniacale pînă la acid azotic. Vinogradski a demonstrat că nitrificarea este desăvîrşită de mai

multe specii care oxidează succesiv amoniacul în acid azotos şi apoi în faza a doua acidul azotos în acid azotic. Vinogradski grupează bacteriile care oxidează amoniacul în acid azotos în trei genuri: Nitrosomonas, Nitrosocystis şi Nitrosospira. Diferitele specii de Nitrosomonas sînt foarte răspîndite în sol şi se deosebesc între ele prin diferite însuşiri. Genul Nitrosomonas (fig.75) grupează bacterii de formă ovală şi care posedă un singur cil, foarte lung. Specia Nitrosomonas javanensis are diametrul celulei de o,6 microni, iar flagelul situat polar este de 2o de ori mai lung decît celula. Din probele luate din diferite soluri din Europa, s-a constatat că în solurile din Europa apuseană se întîlneşte o formă cu celule rotunde sau ovale, avînd dimensiunea de 1,2-1,8 microni, iar în solurile Europei răsăritene, precum şi în Asia se întîlneşte o altă formă cu dimensiunile celulelor de două ori mai mici. In interiorul acestei specii, Vinogradski distinge cinci varietăţi (a, b, c, d, e) care se deosebesc între ele prin forma şi dimensiunile celulelor, gruparea celulelor după diviziune, prin valorile optime ale pH-ului. Genul Nitrosocystis (fig.76) este foarte răspîndit în solurile regiunilor cu climă uscată; de aceea este des întîlnit în solurile din Africa. Acest gen are proprietatea de a forma zooglee. Celulele au formă de coci, cu diametrul de aproximativ 1,5 microni, unite în perechi sau în agregate mici de formă tetraedrică. Pe medii cu silicagel celulele formează colonii mari de circa o,5 mm diametru. Mai tîrziu,la suprafaţa coloniilor se formează o peliculă compactă, iar celulele din interior se închistează. Poziţia sistematică a genului este cu totul incertă. Astfel, după părerea lui A. I m ş e n e ţ k i, tulpinile lui L.G. R o m e l l (1927) izolate din solurile forestiere din Suedia, sînt o asociaţie de Nitrosomonas şi Sorangium. Cercetări mai noi ale lui Imşeneţki pledează în sensul că Nitrosocystis ar fi în realitate o mixobacterie pe care el o denumeşte Sorangium simbioticum, deoarece aproape întotdeauna se găseşte în simbioză cu Nitrosomonas. Din genul Nitrosospira Vinogradski a separat două specii foarte asemănătoare morfologic, aparţinînd probabil, celulei aşezate

Fig.76. Nitrosocystis - celule dispersate. (După Vinogradski.)

Nitrosospira briensis (izolată la Paris) cît şi Nitrosospira arctica se prezintă sub formă de filamente spiralizate, de o lungime foarte diferită (de la coci pînă la spirale), de 15-2o microni (fig.77). Formează, de asemenea, zooglee (mai cu seamă în condiţii speciale), cînd filamen-

Fig.77. Nitrosospira:
1- N.Brie; 2- N.arctica. (După Vinogradski.)

tele lungi se pot desface în granule mici care pe mediu proaspăt generează noi celule. Genul Nitrosospira este foarte răspîndit în natură, în toate climatele, la toate latitudinile, găsindu-se în special în soluri nelucrate. Genul Nitrosococcus are o importanţă redusă şi se găseşte rar. Cuprinde coci de 1,5-1,7 microni diametru, care n-au fost izolaţi în cultură pură. A fost descris de S.N.Vinogradski (1904) din solurile Americii de Sud şi Australiei şi de A.B o n n a z i (1919) în solurile Americii de Nord. Genul Nitrosogloea a fost descris numai în nămoluri. Speciile descrise aparţin grupului nitrobacteriilor care oxidează amoniacul la acid azotos. Validitatea acestor genuri este contestată de Împeneţki (1955) care admite pentru nitritbacterii existenţa unui gen cert, Nitrosomonas.

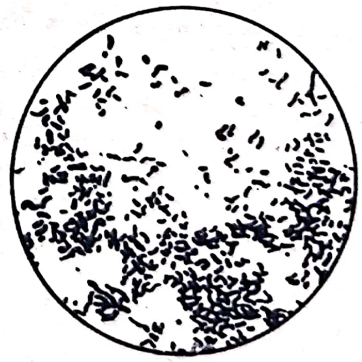


Fig.78. Nitrobacter.
(după Vinogradski.)

Din grupul nitrobacteriilor care oxidează acizul azotos la acid azotic, Vinogradski descrie (1892) pe Nitrobacter (fig.78) (Bacterium

nitrobacter). Abia după 4o de ani au fost descrise încă o serie de specii care desfăşoară aceeaşi activitate biochimică. Nitrobacter se prezintă sub formă de celule ovale de 1 x o,8 microni, nesporulate, Gram negative, care formează colonii mici (diametrul, circa 2oo microni), pe medii nutritive solide. In prezent se consideră că există două specii de Nitrobacter: N. vinogradski, imobil, corespunzînd tulpinii izolate de Vinogradski, în anul 1891 şi N. agilis mobil, corespunzînd tulpinii izolate de N e l s o n, în anul 1931. Dintre alte nitrobacterii se pot cita Bactoderma (fig.79), formă bacilară care pe medii solide formează peliculă continuă. Bactoderma alba şi B. rosea formează pelicule unistratificate, de culoare albă, respectiv roză. Sînt forme bacilare mici, de 1-5 microni. Se dezvoltă bine la pH=7,8-8,6 şi Vinogradski le atribuie o putere mai slabă de oxidare a acidului azotos faţă de Nitrobacter. După K i n g m a şi B o l t j e s (1935) se consideră că speciile de Bactoderma sînt total lipsite de activitate nitrificatoare. Se mai citează genul Microderma, cu două specii, M. minutissima şi M. vacuolata care se dezvoltă bine pe medii cu azotiţi, dar cu o capacitate foarte mică de oxidare a acidului azotos. In anul 1937, E. Vinogradskaia a izolat pe silicagel colonii mari de Nitrocystis, dar n-a obţinut culturi pure. Speciile genului Nitrobacter se dezvoltă bine pe medii minerale ca şi pe medii organice, dar dezvoltarea şi capacitatea de a oxida acidul azotos sînt foarte mult frînate de prezenţa amoniacului, chiar în doze foarte mici (o,oo5 g la un litru de mediu).

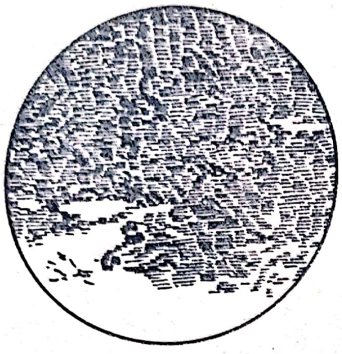


Fig. 79. Bactoderma. (După Vinogradski.)

Fiziologia şi biochimia nitrificării

Influenţa factorilor fizici şi chimici asupra nitrificării

Oxigenul. Intrucît nitrificarea este prin esenţa ei un proces de oxidare, desigur că este cu atît mai energică cu cît oxigenul există în cantitate mai mare în mediu. In condiţii experimentale, mediile de cultură pentru studiul nitrificării trebuie să fie turnate în strate subţiri.

In condiţii experimentale, în solurile traversate de un curent de aer, nitrificarea este intensă, dar scade dacă se măreşte proporţia de azot în curentul de aer.

Influenţa pH-ului. In general, nitrificarea se desfăşoară la un pH alcalin. Majoritatea tulpinilor de Nitrosomonas au pH-ul optim la 8,5-8,8, iar Nitrobacter, de la 8,3-9,3 (M e y e r h o f, 1916). Totuşi, Vinogradski a demonstrat (1944) că există tulpini de nitrosomonas care au un pH optim foarte scăzut, pînă la 6.

Acţiunea luminii. B o u s s i n g á u l t şi R. W a r i n g t o n (1878) afirmau că lumina e defavorabilă procesului de nitrificare. Această afirmaţie este probabil expnesia adevărului, cu toate că au existat lucrări care tindeau să demonstreze, cel puţin pentru solurile tropicale, existenţa unui proces de fotonitrificare de natură fotochimică şi nu biologică (N.R.D h a r). După W a k s m a n şi M a d h o k, nitrificarea este un fenomen biologic, pentru care obscuritatea este condiţia optimă.

Chimismul şi energetica nitrificării

Microorganismele nitrificatoare sînt chimioautotrofe, obţinînd energia din procesul de oxidare a substanţelor minerale, energie pe care o utilizează la reducerea CO_2. Nitrificarea constă din două faze: nitritarea (oxidarea amoniacului la acid azotos) şi nitratarea (oxidarea acidului azotos la acid azotic).

Faza I, nitritarea, se desfăşoară după ecuaţia următoare:

$$NH_4^+ + 1\,\frac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow 2H^+ + H_2O + NO_2^- + 66\ kcal.$$

Intrucît se constată în mediile de cultură că dispariţia amoniacului este mai rapidă decît apariţia acidului azotos, s-a bănuit că această oxidare decurge în trepte cu formarea următorilor produşi intermediari:

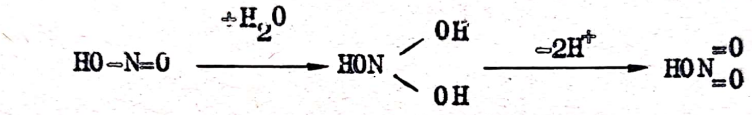
$$NH_3 \xrightarrow{H_2O} NH_4OH \xrightarrow{-2H^+} \underset{\text{hidroxil-amină}}{NH_2OH} \xrightarrow{-2H^+} \underset{\text{acid hipoazotos}}{\frac{1}{2}\,(NOH)_2} \xrightarrow{+H_2O} \underset{\text{dihidroxi-amoniac}}{nH(OH)_2} \xrightarrow{-2H^+} \underset{\text{acid azotos}}{HNO_2}$$

După cum reiese din această ecuaţie, procesul se realizează pe de o parte prin dehidrogenarea amoniacului, pe de altă parte, prin introducerea de oxigen, prin intermediul unei molecule de apă. Hidrogenul este activat de dehidraze specifice, iar oxigenul de către oxidaze.

Faza a II-a, <u>nitratarea</u>, decurge după următoarea ecuaţie:

$$NO_2^- + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NO_3^- + 17 \text{ kcal}.$$

Şi această oxidare se realizează cu formare de produşi intermediari şi apoi dehidrogenarea lor:



HO-N=O — HON(OH)(OH) — HON(=O)=O

acid azotos — hidratul acidului azotos — acid azotic

Energia eliberată treptat în cursul fiecărei reacţii din ambele faze este utilizată de către bacteriile nitroase şi nitrice pentru asimilarea chimioautotrofă a CO_2 după ecuaţia:

$$CO_2 + 4H^+ + x \text{ cal} \longrightarrow \frac{1}{6} C_6H_{12}O_6 + H_2O.$$

Fiziologia microorganismelor nitrificatoare

<u>Consumul de oxigen</u>. Cea mai mare parte a oxigenului consumat de către microorganismele nitrificatoare este utilizat în reacţiile de oxidare amintite. O cantitate mică de oxigen este folosită în respiraţia propriu-zisă, în care ca substrat se consumă diferite substanţe de constituţie a celulei. Această respiraţie endogenă poate fi influenţată, în sensul intensificării sau diminuării, de prezenţa anumitor substanţe organice.

<u>Nutriţia cu carbon</u>. Singura sursă de carbon pentru microorganismele nitrificatoare este carbonul mineral asimilat chimioautotrofic după ecuaţia prezentată mai înainte. Randamentul energetic al reacţiei conjugate cu reducere a CO_2 este foarte scăzut. Astfel, pentru prima fază a reacţiei, raportul dintre azotul oxidat şi CO_2 redus este 35/1, în loc de

2/1, cum ar reieşi din ecuaţia globală, iar în faza a II-a, acest raport este 135/1 în loc de 6,5/1.

Bacteriile nitrificatoare fiind în întregime autotrofe, prezenţa substanţelor organice în mediu poate chiar dăuna desfăşurării normale a proceselor fiziologice intracelulare. Astfel, după Vinogradski şi Omelianski, prezenţa în mediu a numai o,o25% peptonă inhibă dezvoltarea bacteriilor nitrificatoare, iar o,2% peptonă opreşte complet procesul. Prezenţa glucozei în mediu în concentraţii mici (o,ool mol) frînează creşterea celulelor, la concentraţii ceva mai mari (o,ol mol), creşterea se opreşte total, dar respiraţia continuă obişnuit, iar la o,o6 mol şi respiraţia este inhibată cu 4o% (M e y e r h o f).

O acţiune defavorabilă asupra metabolismului bacteriilor nitrificatoare se observă şi în prezenţa compuşilor aminici; astfel, adăugînd uree sau asparagină în mediul nutritiv mineral, se constată o scădere simţitoare atît a creşterii celulelor cît şi a intensităţii respiraţiei bacteriilor nitrificatoare. Cercetările au precizat că toxicitatea compuşilor organici azotaţi este aproximativ proporţională cu numărul de grupări aminice din structura lor.

Substanţele toxice generale, cum sînt cianura de potasiu şi izobutiluretanul, inhibă foarte mult activitatea oxidantă a bacteriilor nitrificatoare, chiar în concentraţii foarte mici. Aceasta se explică probabil prin permeabilitatea deosebită a celulelor acestor bacterii faţă de substanţele solubile în lipide.

Toxicitatea constatată a sărurilor acidului boric se datoreşte, de asemenea, solubilităţii acestuia în lipoide. Toate aceste influenţe se manifestă în culturile pe medii nutritive. In sol, condiţiile sînt radical diferite şi nitrificarea nu este frînată de unii factori chimici descrişi. In primul rînd, cea mai mare parte din substanţa organică din sol nu este solubilă în apă, iar cea solubilă este repede mineralizată de către alte microorganisme, care astfel creează condiţii pentru desfăşurarea normală a activităţii nitrificatoare. De asemenea, amoniacul care anulează activitatea nitrobacterului în culturi lichide este adsorbit de complexul coloidal al solului şi astfel acţiunea lui nocivă nu se resimte.

Scanned with OKEN Scanner

Importanţa nitrificării pentru agricultură

Dacă în sol există anumite condiţii favorabile (umiditate 40-70%, pH=6,2-9,2 şi temperatura 25-35°C), intensitatea nitrificării este maximă şi cantitatea de azotaţi formaţi într-un an pe un hectar atinge 300 kg, ceea ce este suficient pentru o recoltă normală. Totodată, acidul azotic format în cursul procesului de nitrificare măreşte solubilitatea fosfaţilor insolubili, ceea ce accentuează importanţa nitrificării pentru agricultură. Intensitatea procesului de nitrificare depinde în mare măsură şi de sol. In general, în solurile nelucrate şi mai ales în cele podzolice, nitrificarea este slabă şi creşte simţitor o dată cu desţelenirea. Aceasta deoarece afînarea solului prin prelucrare creează condiţiile de oxigenare intensă, absolut necesară desfăşurării activităţii bacteriilor nitrificatoare. Astfel, după desţelenire, în numai cîteva zile, cantitatea de azotaţi poate creşte de 5-10 ori. O altă condiţie favorabilă pentru nitrificare este prezenţa în sol a unei cantităţi suficiente de baze. Astfel, în solurile turboase desţelenite, activitatea nitrificatoare apare numai după amendarea cu calcar.

Activitatea nitrificatoare se desfăşoară cu precădere în stratele superficiale, bine aerisite, pînă la 20 cm adîncime.

Dintre laturile dezavantajoase ale nitrificării trebuie amintit faptul că azotaţii rezultaţi din acest proces nu sînt adsorbiţi de complexul coloidal al solului şi pot fi pierduţi prin levigare sau denitrificare.

Oxidarea sulfului, bacterii sulfooxidante

In cursul degradării microbiene a proteinelor cu sulf ajunse în sol, se eliberează H_2S, şi în cantităţi mici mercaptani. O altă sursă de H_2S în sol este reducerea anaerobă a sulfaţilor de către unele microorganisme. Hidrogenul sulfurat, toxic pentru plante, în condiţii aerobe se oxidează din nou pînă la acid sulfuric, care cu cationii din sol formează sulfaţi. Acest proces este produs de două grupe de sulfobacterii, şi anume: sulfobacterii nepigmentate şi sulfobacterii pigmentate. Sulfobacteriile oxidează intracelular H_2S pînă la acidul sulfuric care contribuie la solubilizarea unor săruri din complexul mineral al solului şi din îngrăşămintele insolubile sau insolubilizate. Primul stadiu de oxidare a H_2S este

formarea de sulf elementar, care se poate acumula în protoplasma celulară, şi numai în cazul epuizării H_2S, sulful din protoplasmă este oxidat mai departe la acid sulfuric. Sulfobacteriile sînt foarte răspîndite în ape, în special în cele poluate , în mlaştini şi mîluri. Sulfobacteriile au fost studiate amănunţit încă în anul 1887 de către S.N.Vinogradski, care în urma acestui studiu a pus bazele noţiunii de autotrofie chimio - sintetică.

Sulfobacteriile nepigmentate cuprind cinci genuri principale: Beggiatoa, Thioploca, Thiotrix, Thiophysa şi Thiospirillum.

Beggiatoa (fig.8o) sînt sulfobacterii filamentoase libere, cu diametrul de o,8-45 microni, iar lungimea filamentului pînă la 1 mm. Din celule izolate în condiţii favorabile se regenerează filamente întregi.

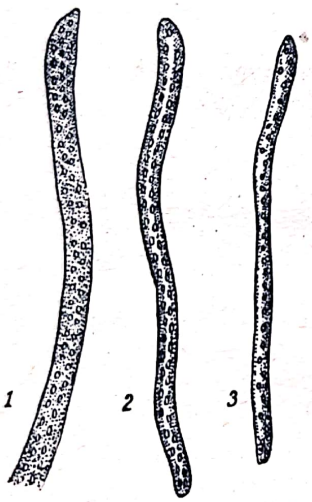


Fig.8o. Sulfobacterii - Beggiatoa: 1- B.alba; 2- B. media; 3- B.minima. (După M.V.Fedorov.)

Fig.81. Thioploca ingrafilamente înconjurate de mucus. (După M.V. Fedorov.)

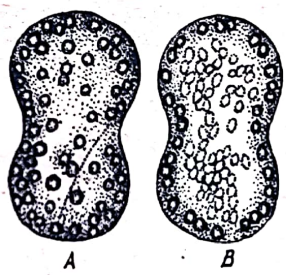


Fig.82. Thiophysa: A- T.macrophysa; B- T.volutans. În celule, picături de sulf. (După M.V.Fedorov).

Fig.83. Thiospirillum vinogradski - celulă cu picături de sulf. (După M.V.Fedorov.)

Thioploca (fig.81) este asemănătoare cu precedenta, dar filamentele pot fi incluse în teci mucilaginoase.

Thiotrix are forme filamentoase imobile, fixate de obiecte prin pedunculi mucilaginoşi.

Thiophysa (Achromatium, fig.82) are corp monocelular în formă de biscuit.

Thiospirillum (fig.83) are formă monocelulară spirală cu granule de sulf intracelular.

Ecuaţiile globale chimice şi energetice după care decurge oxidarea sulfului de către sulfobacteriile nepigmentate sînt următoarele:

$$2H_2S + O_2 \longrightarrow 2H_2O + S_2 + 65 \text{ kcal}$$

$$S_2 + 3O_2 \xrightarrow{+2H_2O} 2H_2SO_4 + 283 \text{ kcal.}$$

Fazele intermediare au fost clarificate pe baza studiului reducerii sulfaţilor de către Spirillum desulfuricans (Desulfovibrio desulfuricans) presupunîndu-se că oxidarea ar decurge după aceeaşi schemă, dar în sens invers. In cazul acestei scheme, fiecare produs se formează prin adiţionarea unei molecule de apă la precedentul şi elibarerea a doi atomi de hidrogen care se combină cu oxigenul atmosferic, adică:

$$H_2S \longrightarrow S \longrightarrow H_2SO \longrightarrow H_2SO_2 \longrightarrow H_2SO_3 \longrightarrow H_2SO_4.$$

Hidrogenul eliberat în cursul fazelor intermediare se poate combina şi cu CO_2, rezultînd substanţe de constituţie a protoplasmei. De aceea, sulfobacteriile se pot dezvolta bine pe medii absolut lipsite de substanţe organice:

$$CO_2 + 2H_2S \longrightarrow \frac{1}{6} C_6H_{12}O_6 + H_2O + S_2.$$

Sulfobacteriile pigmentate. Aceste bacterii posedă un mod de nutriţie dublu, pe de o parte chimiosintetic, pe de altă parte fotosintetic, datorită a doi pigmenţi asimilatori: bacterioclorina, de culoare verde şi bacteriocritrina, de culoare roşie, dizolvaţi în protoplasmă. Aceşti doi pigmenţi sînt reuniţi sub denumirea de bacteriopurpurină şi posedă un spectru de absorbţie deosebit de al clorofilei, maximele de absorbţie spectrală fiind situate în verde şi roşu extrem. Oxigenul rezultat în fotosinteza acestor bacterii nu se eliberează în mediu, ci este utilizat pentru oxidarea intracelulară a hidrogenului sulfurat. Astfel se rezolvă contradicţia dintre condiţiile de profundă anaerobioză în care trăiesc aceste bacterii şi necesitatea de oxigen pentru activitatea lor fiziologică de bază. In acest caz, reacţia fotochimică ar putea fi exprimată prin următoarea ecuaţie:

$$H_2S + 2CO_2 + 2H_2O + h \longrightarrow 2(1/6\ C_6H_{12}O_6) + H_2SO_4.$$

O sulfobacterie purpurie tipică este Chromatium okenii (fig.84), de forma ovală (5 x 15 microni), monotrihă, din familia Thiorodaceae. Din aceeaşi familie mai fac parte: Thiocystis, Thiodictyon etc. Ele conţin în protoplasmă incluziuni de sulf lichid. Spre deosebire de acestea, Athiorodaceae-le nu conţin sulf şi nu oxidează H_2S. La lumină, acestea reduc CO_2 folosind hidrogenul molecular:

$$2H_A + CO_2 \longrightarrow 1/6\ C_6H_{12}O_6 + H_2O.$$

Fotosinteza le serveşte numai pentru obţinerea oxigenului, ceea ce le permite să trăiască în condiţii absolut anaerobe, dacă sînt iluminate.

Fig.84. Chromatium okenii - celule cu picături de sulf. (După M. V.Fedorov.)

Thiosulfatbacteriile. Au capacitatea de a oxida sulful elementar, precum şi derivaţii minerali ai sulfului pînă la acid sulfuric. Sînt bacterii chimiosintetizante al căror principal gen este Thiobacillus, bacili nesporulaţi, Gram negativi, cu flagel polar, care le conferă mobilitate.

Ipotetic, oxidarea sulfului decurge după schema următoare:

$$SH^- \longrightarrow S \longrightarrow S_2O_3^{--} \longrightarrow S_4O_6^{--} \longrightarrow SO_4^{--}.$$

La oxidarea compuşilor minerali ai sulfului participă şi alte specii ale genului Thiobacillus care pot duce oxidarea şi prin alţi compuşi intermediari. Dacă se desfăşoară numai prima fază a oxidării, sulful elementar se depune la exteriorul celulei.

In corpul celular al speciilor de Thiobacillus s-au descoperit aminoacizii obişnuiţi, acid adenozintrifosforic, glucide de rezervă, citocromi. Singura sursă de azot accesibilă este amoniacul şi în nici un caz azotaţii. Dintre elementele minerale este absolut necesară prezenţa fierului şi a manganului. Thiobacillus thiooxidans fiind un autotrof strict este capabil de a sintetiza o serie de vitamine, ca: acidul nicotinic, pantotenic, biotina, riboflavina, tiamina şi piridoxina. La Thiobacillus thiooxidans şi T. thioparus s-au semnalat pe lîngă acestea vitamina B_{12} şi acidul pteroilglutamic. Energia obţinută prin reacţiile de oxidare este întrebuinţată la reducerea bioxidului de carbon atmosferic sau din carbonaţi. K.G.V o g l e r şi W.W. U m b r e i t (1942 şi 1954), lucrînd cu izotopi radioactivi, au obţinut un material experimental pe baza căruia emit ipoteza că la Thiobacillus thiooxidans, energia rezultată prin

oxidarea sulfului se acumulează în legături fosfatice macroergice şi poate fi transmisă ulterior în asimilarea bioxidului de carbon.

Principalele specii de Thiobacillus care oxidează sulful sînt:

Thiobacillus thiooxidans (fig.85) este o bacterie strict aerobă care oxidează sulful elementar şi alţi derivaţi minerali ai sulfului ($S_2O_3^{--}$) pînă la H_2SO_4, pe care-l suportă în concentraţii de 10%. Supravieţuieşte la un pH extrem, cuprins între 0 şi 0,6. Este un bacil mic (3 x 0,5 microni), nesporulat. Ecuaţiile globale după care oxidează compuşii minerali sînt:

Fig.85. Thiobacillus thiooxidans - cultură pură. (După M.V.Fedorov.)

$$S_2 + 3O_2 + 2H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 + 284,6 \text{ kcal} \quad (1)$$

$$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 211,1 \text{ kcal} \quad (2)$$

tiosulfat de Na

$$2Na_2S_4O_6 + 10\ O_2 \longrightarrow 3Na_2SO_4 + 5H_2SO_4 + x \text{ kcal}. \quad (3)$$

tetrationat de Na

Poate fi izolat din sol după îmbogăţire cu sulf, apoi cultivat pe medii cu bază de S, S^{--} şi $S_2O_3^{--}$, pe care-i oxidează pînă la acid sulfuric. Bacteria posedă la ambele extremităţi ale celulei cîte o picătură de grăsime în care se dizolvă particulele de sulf liber din mediu, atinse. De aici sulful trece în citoplasmă, fiind metabolizat. Thiobacillus thiooxidans este destul de răspîndit în sol, exercitînd o acţiune favorabilă, deoarece acidul sulfuric eliberat contribuie la solubilizarea fosfaţilor şi a altor săruri insolubile. Fiind un producător de acid sulfuric, prezenţa lui în anumite soluri poate avea consecinţe pozitive (corecţia pH-ului solurilor alcaline), sau negative (mărirea aciditătii solurilor).

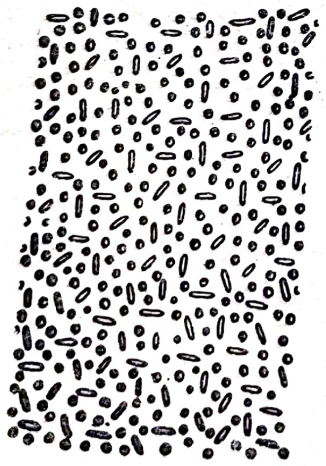


Fig.86. Thiobacillus thioparus - cultură pură. (După M. V.Fedorov.)

Thiobacillus thioparus (fig.86) este un autotrof strict aerob, destul de răspîndit în soluri, care oxidează compuşii minerali ai sulfului, dar mult mai lent şi la un pH apropiat de neutralitate. Ca activitatea fiziologică şi pretenţii nutritive se aseamănă cu bacteria precedentă. Ecuaţia chimică a oxidării compuşilor minerali ai sulfului de către această bacterie este următoarea:

$$5Na_2SO_2O_3 + H_2O + 4\,O_2 \longrightarrow 5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 2S_2 + 500{,}3 \text{ kcal.}$$

Sulful eliberat pe această cale este depus în afara celulei. Energia eliberată este folosită la reducerea şi asimilarea CO_2.

Thiobacterium denitrificans este o bacterie facultativ anaerobă care oxidează compuşii minerali ai sulfului pînă la acid sulfuric folosind ca acceptor de hidrogen oxigenul din nitraţi. Aşadar, o dată cu oxidarea sulfului provoacă şi o denitrificare specifică cu formare de azot molecular. In mediile nutritive cu Thiobacterium denitrificans, concentraţia azotaţilor trebuie să fie foarte mică, pentru ca azotiţii care se formează ca prim stadiu ai denitrificării să nu depăşească doza toxică letală. In condiţii de aerobioză, Th. denitrificans nu utilizează azotaţii. Energia rezultată din procesul de oxidare a compuşilor minerali ai sulfului este folosită în asimilarea CO_2, iar în condiţii de strictă anaerobioză, randamentul este de 1 g carbon asimilat la 100 g tiosulfat oxidat (randament energetic 8,7%). Procesul chimic al oxidării compuşilor minerali ai sulfului decurge după următoarele ecuaţii:

$$2\,\frac{1}{2}\,S_2 + 6KNO_3 + 2aCO_3 \longrightarrow 3K_2SO_4 + 2CaSO_4 + 2CO_2 + 3N_2 + 660 \text{ kcal} \qquad (1)$$

$$5Na_2S_2O_3 + 8NO_3K + 2NaHCO_3 \longrightarrow 6NaSO_4 + 4K_2SO_4 + 2CO_2 + H_2O + 4N_2 + 893 \text{ kcal.} \qquad (2)$$

Activitatea fiziologică a acestei bacterii se desfăşoară cu precădere la un pH apropiat de neutralitate. Din numărul mare de microorganisme care participă la oxidarea sulfului şi compuşilor acestuia se mai pot cita unele microorganisme strict heterotrofe, ca: Pseudomonas fluorescens, Achromobacter stutzeri etc.

La origine, sulful din sol provine din rocile originare, care, de obicei, conţin sulfuri. Acestea se oxidează în solurile aerisite pînă la sulfaţi, iar în solurile neaerisite se pot întîlni şi produşi intermediari ai oxidării sulfurilor, ca tiosulfaţi, politionaţi şi chiar sulf elementar. Însă principala rezervă de sulf mobil din sol este materia organică în care sulful este nelevigabil. Sulful organic predomină asupra sulfului mineral mai cu seamă în solurile umede, unde sulful mineral reprezintă numai 10-20% din sulful total. Cantitatea totală de sulf este de aproximativ 200-1 000 kg la hectar sau 0,5-0,7 °/oo. Diferitele forme sub care se găseşte sulful în sol înregistrează variaţii cantitative anuale, ceea ce se datoreşte în primul rînd fenomenelor de oxidare. Din cercetările

lui K a l u j s k i, citat de M.V.Fedorov,- cantitatea de sulfaţi pe kg de sol uscat variază în cursul unui an (pe luni) astfel: mai - 15,1 mg , iunie - 27,7, iulie - 49,3; august - 56,8, septembrie - 51,2, aprilie (anul următor) - 26,2. Din aceste date reiese clar acumularea treptată a sulfaţilor pînă în toamnă şi diminuarea lor în cursul iernii. Procesul este paralel cu intensitatea nitrificării. Un spor însemnat de sulf în sol poate fi realizat prin îngrăşăminte organice şi mai ales prin gunoiul de grajd. Administrarea de sulfaţi în solul de cultură este importantă prin corecţia pH-ului în solurile prea alcaline.

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul XI

REDUCEREA COMPUŞILOR MINERALI DIN SOL

DENITRIFICAREA

Prin denitrificare în sensul larg al cuvîntului se înţelege orice proces de reducere a nitraţilor, în urma căruia se pot forma compuşi chimici foarte variaţi, ca: nitriţi, amoniac, aminoacizi etc. In sensul restrîns al cuvîntului, denitrificarea include numai acele procese de reducere a nitraţilor în care ca produs final rezultă azot molecular. Deoarece azotul molecular se poate forma din nitraţi în variate procese s-a admis o distincţie între denitrificarea directă şi cea indirectă. In primul caz, reducerea nitraţilor se face în urma activităţii vitale a unui grup special de bacterii, numite bacterii denitrificatoare. In al doilea caz, denitrificarea are loc prin reacţii chimice extracelulare între produşi de metabolism eliminaţi în mediu de către unele microorganisme, pentru care procesul nu prezintă nici o importanţă.

Importanţa reducerii nitraţilor pentru diferite specii de microorganisme este inegală, şi, în funcţie de aceasta, fiecare specie denitrificatoare dispune de sisteme enzimatice corespunzătoare. De aceea, reacţiile biochimice ale denitrificării se desfăşoară total sau numai pînă la anumite faze, conform bazei ereditare a fiecărei specii.

Denitrificarea directă

Unele microorganisme ale denitrificării directe utilizează oxigenul din nitraţi ca acceptor de hidrogen în cursul oxidării substanţei organice şi îl reduc după următoarea schemă:

$$HNO_3 + (\text{dehidrază-}H_2) \longrightarrow HNO_2 + H_2O + \text{dehidrază}.$$

Oxidarea hidrogenului din substrat prin reducerea nitraţilor prezintă pentru ele o importanţă foarte mare, deoarece în acest fel obţin energia necesară activităţii vitale şi se pot dezvolta în condiţii anaerobe. Pentru alte microorganisme, reducerea nitraţilor poate fi numai un stadiu premergător al utilizării azotului din nitraţi.

$$HNO_3 + 4\ \text{dehidrază-}H_2 \longrightarrow NH_3 + 3H_2O + 4\ \text{dehidraze}.$$

Acest proces îl execută probabil toate organismele vegetale, inclusiv plantele superioare care folosesc nitraţii ca sursă de azot în procesele de proteosinteză primară. La o altă grupă de bacterii, reducerea nitraţilor este un proces secundar legat de mobilizarea puternică a hidrogenului mai cu seamă în procesele de fermentaţie anaerobă a hidraţilor de carbon.

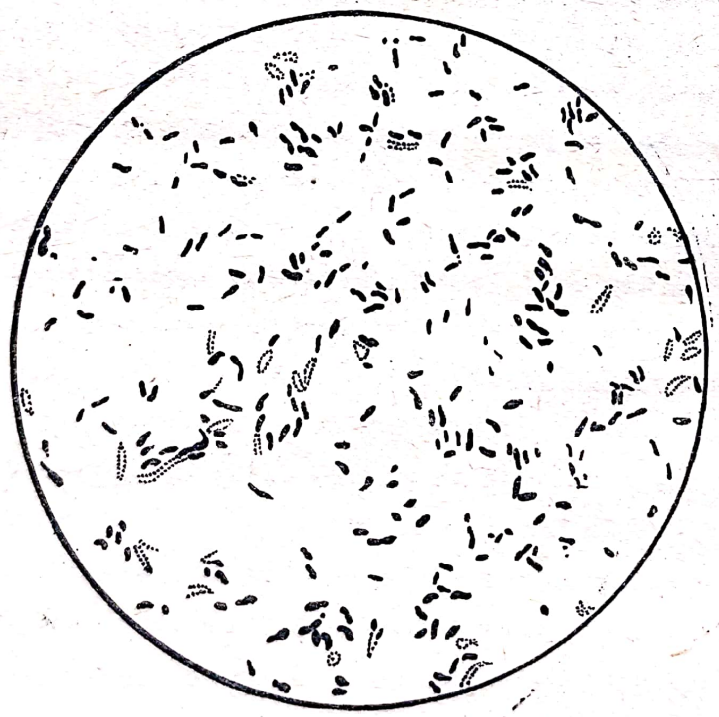


Fig.87. *Bacterium denitrificans* - bacili mici. (După M.V.Fedorov).

Toate cazurile expuse mai sus se includ în noţiunea largă de denitrificare, constituind denitrificarea nespecifică. Spre deosebire de aceasta, în procesele de denitrificare specifică, se obţine azot molecular.

Acest proces este executat de bacteriile denitrificatoare şi duce la pierderea azotului din sol. Bacteriile denitrificatoare sînt larg răspîndite în soluri şi bazine acvatice, principalele forme cunoscute fiind:

Bacterium denitrificans (Achromobacter denitrificans) (fig.87). Este un bacil mic, cu flageli peritrihi, nesporulat, bacterie facultativ anaerobă, reduce nitriţii la azot liber. In culturi mixte cu Escherichia coli, de exemplu, poate reduce şi nitraţii .

Bacterium stutzeri (sinonim cu Pseudomonas stutzeri) (fig.88). Este un bacil mic (0,8 x 0,5 microni), Gram negativ, care formează adesea lanţuri. Coagulează laptele şi fermentează zahărul cu formare de gaze. Cultivat pe medii cu peptonă formează H_2S, în condiţii de anaerobioză reduce şi nitraţii.

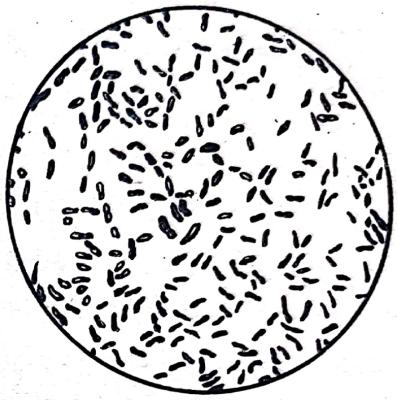


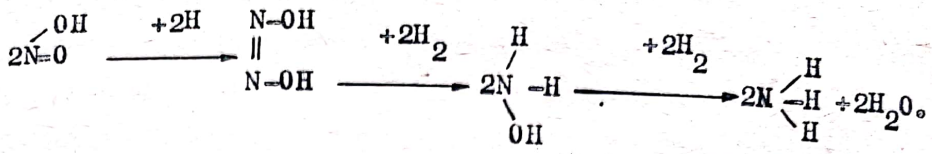
Fig.88. Chromobacter stutzeri - bacili scurţi (mărire 1500x). (După M.V. Fedorov).

Pseudomonas fluorescens este un bacil mobil, celulele izolate, Gram negativ, avînd capacitatea de a coagula laptele. Cultivat pe cartof dă colonii cu margini galbene-verzui. La insuficienţă de fosfor sau la temperaturi joase se pigmentează. Reduce nitraţii pînă la azot molecular. Bacteriile denitrificatoare sînt larg răspîndite în sol, dar se pot întîlni şi în alte medii naturale, ca: gunoiul de grajd, în apele poluate şi în apa de mare.

Procesele biochimice ale denitrificării

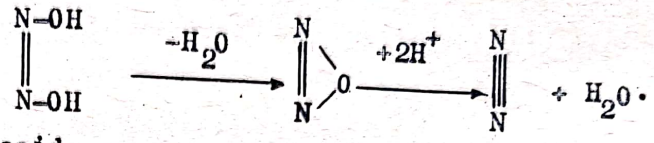
Atît în denitrificarea specifică cît şi în cea nespecifică, lanţurile de reacţii au primele faze comune: oxigenul azotaţilor este folosit la oxidarea H^+ din diferite substrate. Rezultă acid azotos care este redus mai departe pînă la acid hipoazotos şi apă. De aici, reacţiile continuă diferit: în denitrificarea nespecifică, acidul hipoazotos este redus prin hidrogenare, rezultînd hidroxilamină, apoi amoniac. In denitrificarea specifică, acidul hipoazotos este deshidratat şi rezultă protoxid de azot, care este redus la azot molecular:

$$\underset{\text{acid azotic}}{O=N(=O)-OH} \xrightarrow{+2H^+} \underset{\text{acid azotos}}{N(OH)=O} + H_2O$$



acid
Demitrificare nespecifică hipoazotos hidroxilamină amoniac

Denitrificare specifică



acid hipoazotos — protoxid de azot — azot

Parcurgerea întregului lanţ de reacţii este obligatorie în special în cazul denitrificării nespecifice, atunci cînd produsul final, amoniacul, este utilizat în procesele de protëosinteză. In cazul denitrificării nespecifice, procesele se pot opri în acele faze, care nu mai prezintă importanţă pentru microorganismul denitrificant şi în acest caz în sol se pot acumula produşi intermediari. In numeroase cercetări s-a constatat acumularea de azotiţi, iar M. K o r s a k o v a a izolat din sol o bacterie care reduce doze mari de azotaţi (0,8%) cu acumulare de acid hipoazotos, după următoarea ecuaţie chimică:

$$C_6H_{12}O_6 + 6KNO_3 \longrightarrow 6CO_2 + 3K_2N_2O_2 + 6H_2O + x\ kcal.$$

hipoazotit de potasiu

Din reacţiile prezentate mai sus reiese că bacteriile trebuie să posede un sistem enzimatic special pentru activarea oxigenului din nitraţi cînd acesta poate deveni acceptor de hidrogen. Acest sistem a fost denumit nitratază, şi el acţionează mai cu seamă cînd în sol sînt condiţii anaerobe. In acest caz, pierderea de azot atinge valori apreciabile, cînd în sol există cantităţi mari de substanţe organice oxidabile. Pe de altă parte, cercetările arată că şi în prezenţa unei mari cantităţi de substanţe organice, dacă aerisirea solului este suficientă, pierderile de azot nitric sînt foarte mici. Aceasta duce la concluzia că bacteriile denitrificatoare pot folosi ca acceptor de hidrogen şi oxigenul molecular atmosferic. Deci, bacteriile denitrificatoare trebuie să

mai posede un sistem fermentativ capabil să activeze oxigenul atmosferic, care astfel devine acceptor de hidrogen. In funcţie de cantitatea de substanţe organice din sol şi de cantitatea de oxigen, poate acţiona unul din aceste sisteme sau ambele. In funcţie de aceleaşi condiţii, pierderea de azot nitric în urma activităţii bacteriilor denitrificatoare este mai mare sau mai mică. Procesul de reducere a nitraţilor din sol are pentru bacterii o importanţă mare, deoarece le furnizează energia necesară executării proceselor vitale. Dacă în condiţii anaerobe, nitraţii îndeplinesc rolul de acceptor de hidrogen se creează un raport determinat între cantitatea de substanţe organice oxidate şi cantitatea de nitraţi reduşi. Procesul se desfăşoară după următoarea ecuaţie chimică globală:

$$C_6H_{12}O_6 + 4\ NO_3^- \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{aprox. } 420 \text{ kcal.}$$

După cercetările lui Korsakova, pentru oxidarea a 37,5 mg glucoză se consumă cam 100 mg KNO_3.

Pe lîngă bacteriile denitrificatoare descrise, există şi forme care cu ajutorul oxigenului din nitraţi pot oxida sulful elementar pînă la acidul sulfuric. Aşa este Thiobacillus denitrificans, larg răspîndit în natură, ceea ce indică participarea sa la importante procese de denitrificare. Există şi bacterii denitrificatoare termofile, sporulate, care produc o energică reducere a nitraţilor la temperaturi de 60-70°C, cum este Denitrobacter thermophyllum.

Denitrificarea indirectă

Pe lîngă procesele de denitrificare descrise la care participă direct microorganismele şi care constituie denitrificarea directă, există şi o denitrificare chimică la care microorganismele participă numai prin faptul că formează aminoacizi şi amide (prin descompunerea proteinelor) şi acid azotos (prin reducerea nitraţilor). Intre aceşti compuşi are loc o reacţie pur chimică în afara celulelor şi care nu are pentru microorganisme nici o importanţă energetică sau plastică, dar în urma căreia se formează azot molecular:

$$R\text{-}CHNH_2\text{-}COOH + ONOH \longrightarrow \underset{\text{oxiacid}}{R\text{-}CHOH\text{=}COOH} + H_2O + N_2 \qquad (1)$$

$$\underset{\text{amidă}}{R\text{-}CO\text{-}NH_2} + ONOH \longrightarrow \underset{\text{acid organic}}{R\text{-}COOH} + H_2O + N_2. \qquad (2)$$

Acest proces, denumit denitrificare indirectă, este condiţionat de multe specii de bacterii din sol, care eliberează în mediu aminoacizi, amide şi acid azotos. S-ar părea că pe această cale se pot pierde din sol mari cantităţi de azot asimilabil. Totuşi, deoarece reacţia are loc numai în mediu acid, iar solul cultivat numai rareori are reacţia acidă, acest proces are o influenţă negativă mică.

IMPORTANŢA DENITRIFICĂRII PENTRU AGRICULTURĂ

Reducerea nitraţilor cu formarea de azot molecular, inaccesibil plantelor, este un proces negativ pentru agricultură. Dar pentru ca intensitatea procesului să fie maximă se cere întrunirea cîtorva condiţii care în solul cultivat se întrunesc foarte rareori: aeraţia slabă şi umiditatea mare în sol, prezenţa unor mari cantităţi de substanţe organice solubile şi o anumită reacţie a solului. De exemplu, Bacterium stutzeri reduce nitraţii cu maxim de intensitate, la pH=7, sub pH=6,1 şi peste 9,6, intensitatea denitrificării scade simţitor. Este interesantă şi îmbinarea condiţiilor de denitrificare în cernoziomuri, care au un pH favorabil, cu cantităţi mari de azotaţi, cantităţi mari de substanţe organice şi numeroase bacterii denitrificatoare. In asemenea condiţii, denitrificarea ar trebui să fie foarte intensă, dar ea este foarte limitată prin faptul că numai o cantitate mică din substanţă organică este solubilă.

Totuşi, în cazul introducerii în sol a îngrăşămintelor organice, se observă o pierdere rapidă a azotaţilor. S-a constatat că din aceşti azotaţi, numai o mică parte se pierd sub formă de azot molecular, restul intră în compoziţia celulelor microbiene în creştere şi azotul poate deveni accesibil prin mineralizarea microorganismelor. Numeroase lucrări dovedesc că aceste pierderi sînt direct proporţionale cu activitatea microflorei totale. Cea mai mică activitate denitrificatoare se observă în solurile foarte acide, iar cea mai intensă, în solurile arabile, fertile şi bine aerisite. In aceste soluri după C h a p m a n, L i e b i g şi R e y n e r (1949), pierderile de azot prin denitrificare se ridică la 7o kg la hectar pe an.

Importanţa negativă a proceselor de denitrificare scade cu mult, atunci cînd în agricultură se ţine seama de condiţiile microbiologice ale

solului, iar cînd se folosesc în mod ştiinţific şi bacteriile fixatoare de azot, pierderile se reduc la zero şi se poate obţine chiar sporirea rezervelor de azot ale solului.

REDUCEREA SULFAŢILOR PÎNA LA HIDROGEN SULFURAT

In condiţii de anaerobioză, unele bacterii folosesc drept acceptor de H_2 sulfaţii, pe care îi reduc la H_2S. Reacţia chimică globală a acestui proces este exact inversă oxidării H_2S la sulfaţi. In fiecare fază a reacţiei de reducere se pierde un atom de oxigen care cu doi atomi de hidrogen proveniţi din substratul organic, ce se degradează, dau apă şi, deoarece sulful nu iese din reacţie, ultimul produs este H_2S.

$$H_2SO_4 \xrightarrow[-H_2O]{+2H^+} \underset{\text{acid sulfuros}}{H_2SO_3} \xrightarrow[-H_2O]{+2H^+} H_2SO_2 \xrightarrow[-H_2O]{+2H^+} H_2SO \xrightarrow[-H_2O]{+2H^+} H_2S.$$

Printre organismele capabile să execute acest proces se pot cita Spirillum desulfuricans (Desulfovibrio desulfuricans) (fig.89), izolat de B e i j e r i n c k şi care de fapt este un vibrion; Vibrio hydrosulfureus, izolat de Z e l i n s k i şi E. B r u s i l o v s k i; Microspira aestuari (Desulfovibrio aesturarii) şi Vibrio thermodesulfuricans. In general, se consideră că aceste forme nu formează spori. Totuşi, de curînd, S t a r k e y a izolat desulfobacterii care pot acţiona la temperaturi ridicate şi formează spori. De aceea s-a admis existenţa a două specii, Vibrio desulfuricans şi Sporovibrio. In general, dezvoltarea acestor bacterii este legată de prezenţa în mediu a substanţelor organice ce pot furniza hidrogen mobil, cum sînt hidraţii de carbon, acizii organici, alcoolii etc., în prezenţa asparginei, peptonei sau sărurilor de amoniu, precum şi a sulfaţilor. Oricare ar fi donatorul de hidrogen, procesul de reducere a sulfaţilor are următoarele două faze comune: mobilizarea H_2 de la

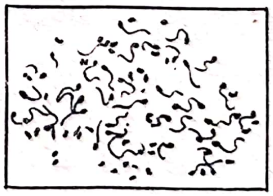


Fig.89. Spirillum (Vibrio) desulfuricans. (După M. V. Fedorov.)

substrat şi reducerea sulfaţilor cu ajutorul acestui hidrogen. In cazul hidraţilor de carbon, procesul chimic este următorul:

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \longrightarrow 6CO_2 + 12\ H_2 \qquad (1)$$

$$6H^+ + 3SO_4^{--} + 12\ H_2 \longrightarrow 12\ H_2O + 3H_2S \qquad (2)$$

$$C_6H_{12}O_6 + 6H^+ + 3SO_4^{--} \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 3H_2S + x\ kcal.$$

In cazul mobilizării H_2 dintr-o hidrocarbură, procesul chimic se petrece astfel:

$$CH_4 + 2H_2O \longrightarrow CO_2 + 4H_2$$

$$2H^+ + SO_4^{--} + 4H_2 \longrightarrow 4H_2O + H_2S + x\ kcal.$$

In cazul folosirii H_2 de la un acid organic, procesul este aproape identic:

$$CH_3 - COOH + 2H_2O \longrightarrow 2CO_2 + 4H_2$$

$$2H^+ + SO_4^{--} + 4H_2 \longrightarrow 4H_2O + 2H_2S + x\ kcal.$$

Desulfobacteriile pot folosi orice sursă de carbon, chiar cele mai inactive hidrocarburi, grăsimi, ceride. Un exemplu de asemenea utilizare însoţită de reducerea sulfaţilor este exprimat prin ecuaţia:

$$C_9H_{20} + 7CaSO_4 \longrightarrow 7\ CaCO_3 + 2CO_2 + 3H_2O + 7H_2S + 32,4\ kcal.$$

nonan

Compuşii organici ciclici sînt degradaţi complet, inclusiv nucleul aromatic, iar H_2 folosit total la reducerea sulfaţilor. Un astfel de exemplu este oxidarea acidului salicilic:

$$8C_6H_4\begin{matrix}OH\\ COOH\end{matrix} + 28CaSO_4 + 4H_2O \longrightarrow 28CaCO_3 + 28H_2S + 28CO_2 + 191\ kcal.$$

Toate aceste procese sînt importante pentru bacterii cărora le furnizează carbon şi energie, iar în natură duc la acumulare de H_2S în sol şi bazine acvatice. Reducerea compuşilor minerali ai sulfului este foarte răspîndită în special în solurile saturate cu apă a căror culoare neagră

se datoreşte sulfurilor de fier formate pe această cale. Reducerea sulfaţilor este executată de un grup de bacterii specializate care totodată pot reduce şi sulfiţi, tiosulfaţi, tetrationaţi şi sulf coloidal. Aceste bacterii sînt facultativ autotrofe. In acest grup intră şi bacterii heterotrofe care reduc mai cu seamă formele parţial oxidate ale sulfului. In general, desulfobacteriile sînt considerate ca strict anaerobe, totuşi H. J. B u n k e r (1939), A. B a u m a n n şi V. D e n k (1950-1951) au dovedit că aceste bacterii au mare toleranţă la oxigen. In natură asociaţia lor cu bacterii aerobe creează condiţii ca bacteriile sulfato - reducătoare să se dezvolte în condiţii apropiate de aerobioză. Cu toate că au capacitatea de creştere autotrofă, unele bacterii sulfatoreducătoare, ca Sporovibrio desulfuricans, reacţionează pozitiv la prezenţa în mediu a extractului de drojdie sau a peptonei, care intervin ca substrat nutritiv. Creşterea acestor bacterii mai este stimulată de prezenţa în mediu a cisteinei, sulfurilor şi parţial de prezenţa Fe^{++}, care intervin ca agenţi reducători.

Forme heterotrofe nespecializate sulfatoreducătoare. In acest grup intră microorganisme din cele mai variate grupe sistematice. Astfel, dintre ciuperci Schizophyllum commune reduce sulfaţii cu formare de metilmercaptan. Dintre bacteriile anaerobe, unele Clostridiales au temporar capacităţi sulfatoreducătoare. Aşa sînt: Clostridium flabelliferum, C. caproicum. Dintre bacteriile aerobe, în anumite condiţii, Bacillus megaterium poate reduce sulfaţii.

Ciclul biologic al sulfului. Ca şi alte elemente minerale biogene, compuşii sulfului suferă în natură complexe transformări bio - chimice: transformări metabolice, realizate de către plantele verzi care reduc sulful de la forma sulfurică minerală pînă la forma sulfhidrică (-SH) sau disulfidrică (-S-S-) caracteristică substanţelor organice şi mineralizare, executată de microorganisme. Rezultatul mineralizării sînt sulfaţii şi sulfiţii (exprimaţi în schemă prin formulele anhidridelor acizilor corespunzători). Din acest punct ciclul este reluat de către plantele verzi.

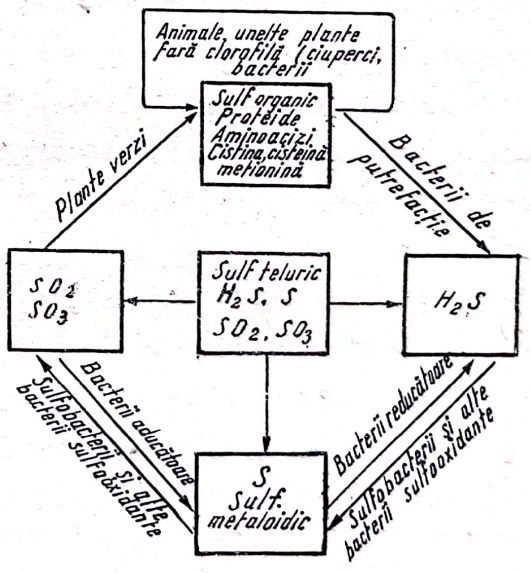


Fig. 9o.

Transformările care compun ciclul biologic al sulfului sînt rezumate în figura 9o.

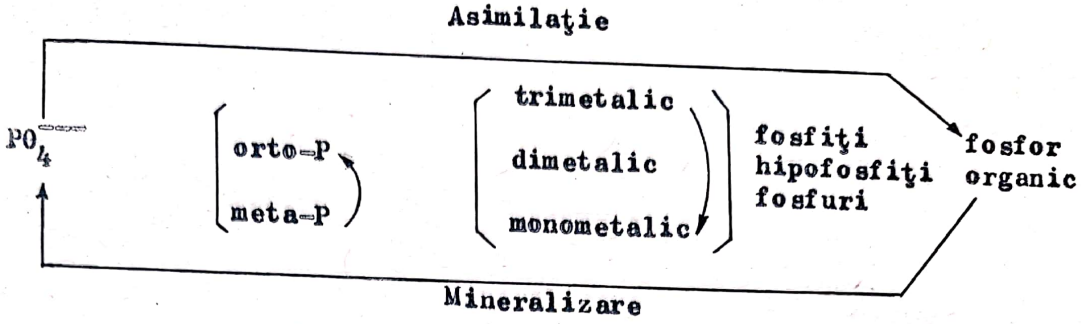
TRANSFORMĂRILE COMPUŞILOR FOSFORULUI DE CĂTRE MICROORGANISME

Fosforul este un element esenţial participînd la toate reacţiile metabolice care prin natura lor implică fosforilarea. Sub formă de anion ortofosforic el participă în metabolismul glucidelor, proteinelor şi lipidelor. In celule fosforul se concentrează în nucleoproteine, participînd astfel la diviziunea celulară şi implicit la creşterea ţesuturilor meristematice. In momentul de faţă se cunoaşte rolul fosforului în creşterea plantelor, în sporirea recoltelor, precum şi manifestările lipsei de fosfor în sol. Deficienţe de fosfor s-au semnalat în special în solurile din Australia şi Africa de sud, dar şi în numeroase soluri din Europa. Lipsa de fosfor se manifestă în special în solurile argiloase grele şi bazice. Aceasta se datoreşte nu atît lipsei de fosfor în complexul organomineral al solului cît mai ales insolubilizării anionilor fosforici acolo unde pH-ul depăşeşte valoarea 8.

Plantele au posibilitatea de a solubiliza fosfaţii insolubili prin CO_2 şi acizii organici eliberaţi din respiraţia rădăcinilor. O acţiune mai puternică de solubilizare a fosfaţilor insolubili este executată de microorganisme care au şi capacitatea de a mineraliza fosforul organic trecîndu-l în forme accesibile.

Ciclul biologic al fosforului este dirijat în cea mai mare parte de microorganisme care pe de o parte mobilizează fosforul insolubil, iar pe de altă parte, îl fixează temporar, asimilîndu-l. De exemplu, la introducerea masivă de îngrăşăminte organice, cînd se dezvoltă numeroase microorganisme, acestea asimilează cantităţi mari de fosfor, manifestîndu-se o adevărată concurenţă pentru fosfor între microorganisme şi plantele superioare. Transformările microbiologice ale fosforului sînt destul de puţin cunoscute ca şi bacteriile specifice.

O schemă de ansamblu a fost dată de P i c c i în anul 1952, care încearcă să sintetizeze datele fragmentare existente.



Ciclul fosforului după G. Picci

Unii autori au presupus posibilitatea reducerii ionului PO_4^{---} pînă la PH_3, în condiţii anaerobe, ceea ce ar duce la importante pierderi de fosfor în timpul fermentării gunoiului de grajd. Această ipoteză pare să fie infirmată de faptul că în gunoiul de grajd fermentat anaerob, nu s-a sesizat niciodată existenţa hidrogenului fosforat. De altfel, o asemenea reducere este neverosimilă din punct de vedere energetic, deoarece pentru reducerea unui atom de oxigen de la acidul fosforic sînt necesare 77,4 kcal, ceea ce nu se poate realiza în cursul oxidării nici unei substanţe organice. De aceea, reducerea directă a fosfaţilor nu ar putea avea pentru microorganisme aceeaşi importanţă ca şi reducerea altor compuşi minerali. Totuşi, în unele cazuri, acidul fosforic poate fi redus parţial şi indirect în cursul anumitor procese de reducere executate de microorganisme paralel cu activitatea lor biochimică de bază. De exemplu, în timpul fermentaţiei butirice poate avea loc formarea de acid metafosforic, după ecuaţia:

$$H_3PO_4 + C_6H_{12}O_6 \longrightarrow H_3PO_3 + H_2O + CH_3-CH_2-CH_2-COOH + 2H_2 + 2CO_2 + 4{,}2 \text{ kcal}.$$

Dacă se compară efectul energetic al fermentaţiei butirice însoţite de reducerea fosfaţilor (4,2 kcal) cu efectul energetic al fermentaţiei butirice normale (2o kcal), reiese că la reducerea unei molecule-gram de acid ortofosforic se consumă 2o-4,2 kcal = 15,8 kcal, ceea ce pentru bacteriile butirice este dezavantajos.

Deşi asemenea procese de reducere sînt posibile, ele probabil se realizează foarte greu şi de aceea în plante fosforul se poate întîlni numai sub forma sa cea mai oxidată de PO_4^{---}.

O altă serie de transformări ale fosforului mineral executată de microorganisme constă în oxidarea metafosfaţilor la acid ortofosforic.

Acest proces a fost studiat de H.Picci care a precizat că Aspergillus şi Penicillium pot metaboliza metafosfaţii, transformîndu-i în ortofosfaţi.

In sfîrşit, cel mai important proces de transformare a fosforului executat de microorganisme este mobilizarea fosfaţilor insolubili. Pînă în momentul de faţă, solubilizarea fosfaţilor de către microorganisme este pusă pe seama eliberării de către ele a bioxidului de carbon. Acidul carbonic format disociază în ioni CO_3H^- şi H^+, care atacă fosfaţii insolubili existenţi în sol, eliberînd ionul fosforic prin schimb ionic. Ionii astfel eliberaţi pot fi utilizaţi de microorganisme sau pot fi absorbiţi de plantele superioare. Pe de altă parte, prin acelaşi mecanism şi plantele superioare pot metaboliza fosfaţii. Tot sub influenţa CO_2, fosfaţii insolubili, ca fosfatul tricalcic, pot fi trecuţi chimic în fosfaţi mai uşor solubili, ca fosfatul bicalcic, după reacţia:

$$Ca_3(PO_4)_2 + 2CO_2 + 2H_2O \longrightarrow 2CaHPO_4 + Ca(HCO_3)_2.$$

De asemenea şi bacteriile nitrificatoare şi sulfooxidante, care eliberează acizi minerali, respectiv azotic şi sulfuric, aduc o importantă contribuţie la solubilizarea fosfaţilor.

MINERALIZAREA MICROBIOLOGICA A FOSFORULUI ORGANIC

Principala funcţie a microorganismelor în ciclul fosforului este mineralizarea fosforului organic. Primul care a semnalat transformarea microbiană a fosforului organic în ortofosfaţi a fost J.S t o k l a s a (1911). Cercetările în această problemă au fost reluate cu amploare în preajma anului 1950, cînd s-au conturat două direcţii de studiu.

Prima direcţie constă în studiul mineralizării combinaţiilor organofosforice în culturi pure de microorganisme. Acest curent a fost dezvoltat de J.Stocklasa, R.A. Menkina şi G.Picci (1949-1952). Astfel, lucrînd pe medii saline glucozate, cu acidul nucleic ca unică sursă de azot s-a constatat că bacterii, ca Bacillus mycoides, B.subtilis şi Proteus vulgaris mineralizează între 15 şi 24% din fosforul organic existent. In prezenţa $SO_4(NH_4)_2$, ca sursă suplimentară de azot, aceste pro-

cente se apropie de 50%. Din sol s-au mai izolat ca bacterii fosfomine - ralizante: Bac.megaterium var. phosphaticum şi Serratia corallina var. phosphaticum. In cercetările sale, Picci a constatat că există numeroase tulpini de Eubacteriales din genul Bacillus, care mineralizează fosforul organic şi în special glicerofosfatul şi nucleinatul de sodiu, cum sînt Bacillus mesentericus, B.vulgaris, B.asterosporus, B.malabarensis, B.petasites. De asemenea s-a dovedit că numeroase drojdii au capacitatea de a mineraliza glicerofosfatul chiar mai energic decît speciile de Bacillus. Aşa sînt: Saccharomyces ellipsoideus, Candida albicans, C.pulcherima, Hansenula anomala. Alte ciuperci care mineralizează fosforul organic sînt: Aspergillus glaucus, Penicillium notatum, Alternaria solani, Tricothecium roseum.

A doua direcţie de studii priveşte mineralizarea fosforului în condiţii de sol. Cercetări în acest sens au fost iniţiate de autori, ca I. P o l i t i (1941), L.M. T h o m s o n şi colaboratorii (1949-1951) şi G.Picci (1952). In linii generale s-a constatat o mineralizare intensă în solurile necultivate faţă de cele cultivate şi în solurile calcaroase faţă de cele acide. In ordine crescîndă a activităţii fosfomineralizante, solurile cercetate se plasează în următoarea serie: nisipoase nehumificate, argiloase, soluri de grădină şi cultivate cu cereale, soluri nisipoase humificate.

Mineralizarea microbiană a fosforului organic este esenţială pentru plantele superioare şi este binevenită în măsura în care combinaţiile organice cu fosfor din sol sînt în cantitate suficientă pentru ca fosforul eliberat să depăşească cantitatea de fosfor fixat în corpul microorganismelor.

Luînd în considerare funcţia fotomineralizantă a anumitor bacterii, în U.R.S.S. a fost creat un nou îngrăşămînt bacterian, fosforobacterinul. Acesta se aplică prin bacterizarea seminţelor în solurile care conţin cantităţi mari de substanţe organice cu fosfor sau în care se introduc îngrăşăminte organice. In solurile acide este necesar să se aplice în prealabil amendamente cu calcar, iar în solurile sărace în azot se administrează îngrăşăminte azotate.

Incă în anul 1933, S.A. W a k s m a n a descoperit în sedimentele marine bacterii care mineralizează fosforul din substanţa organică sedimentată.

Aşadar, eliberarea ionilor de fosfor din combinaţiile organice se încadrează în circuitul general biologic şi geologic al elementelor biogene pe suprafaţa pămîntului (inclusiv în mări) şi asigură regenerarea continuă a hranei necesare existenţei vieţii pe pămînt.

Capitolul XII

FIXAREA AZOTULUI MOLECULAR DE CĂTRE MICROORGANISME

Azotul este elementul esenţial al materiei vii cu participarea căruia se sintetizează însăşi suportul material al vieţii, substanţa proteică. In atmosferă există o cantitate enormă de azot, dar în stare moleculară este absolut inaccesibil marii majorităţi a organismelor vii, şi mai cu seamă celor superioare. Azotul accesibil plantelor, adică sub formă de săruri ale acidului azotic sau amoniacului, se găseşte în sol, unde rezultă prin degradarea substanţei proteice. Dar aceste rezerve de azot sînt mici şi uşor epuizabile. Astfel, plantele de multe ori suferă evident din cauza insuficienţei de azot accesibil din sol. Azotul molecular care se găseşte în atmosferă în cantitate enormă de 80 000 tone deasupra fiecărui hectar de teren poate deveni accesibil plantelor în urma combinării lui chimice şi biologice. Fixarea chimică se realizează în natură prin descărcări electrice atmosferice în cantităţi neînsemnate. Fenomenul este aplicat şi dirijat în industria de îngrăşăminte minerale sintetice, realizîndu-se randamente mari. Fixarea biologică a azotului introduce anual în sol o cantitate de azot accesibil mai mare decît tot consumul anual mondial de îngrăşăminte azotoase. In solurile cultivate, cantitatea de azot atmosferic fixat de bacteriile libere atinge jumătate din conţinutul de azot al recoltelor.

Prin urmare, fixarea azotului molecular are în natură şi mai cu seamă în practica agricolă o importanţă excepţional de mare. Nu toţi cercetătorii sînt de acord în privinţa importanţei fixării biologice a azotului. O parte din cercetătorii moderni tind să minimalizeze importanţa procesului de fixare a azotului molecular mai ales de către bacteriile nesimbiotice. Fenomenul de fixare a azotului de către solul "viu" a fost pus în evidenţă în anul 1888 de către B e r t h e l o t, iar în anul

1893 Vinogradski, pentru prima dată, separă în cultură pură o bacterie anaerobă fixatoare de azot, denumită Clostridium pasteurianum. In anul 1901, B e i j e r i n c k izolează două specii ale genului Azotobacter, care fixează azotul atmosferic în condiţii aerobe. Mai tîrziu, în rîndul fixatorilor de azot au fost incluse şi unele bacterii fotosintetizante, precum şi unele alge şi ciuperci.

Paralel cu aceste descoperiri s-a clarificat şi fenomenul fixării simbiotice a azotului molecular. Incă în anul 1888, Beijerinck izolează în cultură pură pe mediu sintetic bacteria Bacillus radicicola (Rhizobium sp.), care produce nodozităţi la leguminoase şi despre care se bănuia că îmbogăţeşte solul în azot.

FIXAREA AZOTULUI MOLECULAR DE CĂTRE BACTERII LIBERE DIN SOL

Bacteriile libere tipice, fixatoare de azot molecular, cuprind trei genuri: Azotobacter şi Beijerinckia - aerobe şi Clostridium - anaerob. Pe lîngă aceste microorganisme care fixează azotul cu randament foarte ridicat, există şi un număr destul de mare de microorganisme libere aparţinînd diferitelor grupe taxonomice, care fixează azotul molecular cu un randament mic. Cel mai răspîndit fixator aerob este Azotobacter, deoarece prezintă largi capacităţi de adaptare. Două din speciile Azotobacterului sînt cele mai răspîndite şi mai eficace: Azotobacter chroococcum şi A. agile.

Azotobacter chroococcum este format din celule sferice, puţin turtite, de obicei incluse într-o capsulă mucilaginoasă şi frecvent reunite în perechi. De fapt, morfologia Azotobacterului este cu mult mai complexă în funcţie de vîrstă şi de condiţiile de mediu. Ciclul morfologic legat de vîrstă comportă următoarele stadii: formele tinere sînt bastonaşe de 2x4 microni, mobile, cu ciliaţie peritrihă şi protoplasmă nediferenţiată. După circa o săptămînă apar formele mature în formă de coci imobili de 2-4 microni diametru, cu numeroase incluziuni trofice, ca: glicogen, lipide, volutină. Celulele bătrîne se închistează, devin imobile şi se înconjură cu o capsulă densă. Substanţa nucleară în celulele de Azotobacter este

răspîndită difuz, iar uneori poate forma o reţea cromatică. Diviziunea celulelor vegetative se desfăşoară prin strangulare. Alături de acest ciclu simplu de diviziune, s-a descris recent formarea intracelulară de mici mase protoplasmatice care pot evolua în două sensuri: macrogonidii în număr mic, adesea alungite, rămînînd ca atare un timp mai îndelungat, care apoi sînt eliberate din celulă şi generează forme normale prin simpla mărire a volumului, precum şi microgonidii, care se formează în număr mare şi sînt eliberate rapid din celulă sub formă de mici celule mobile cu un mănunchi de cili polari. Aceste celule pot suferi mai multe diviziuni în această formă şi numai apoi generează forme normale de Azotobacter (K.A. B i s s e t s şi C. H a l e, 1953). Tot în anul 1953, N. D o n d e r o şi M.Z a l l e au descris la Azotobacter cicluri reproductive şi mai complicate care includ fenomene de conjugare.

Azotobacter argile. Ciclul morfologic admis, considerat clasic, este următorul: formele tinere sînt bastonaşe mari, mobile peritrihe, prezentînd o reţea cromatică. Formele adulte sînt coci mari de 3-6 microni diametru, adesea alungiţi. Uneori apar şi forme foarte lungi, aproape filamentoase. Celulele bătrîne nu se închistează, ci se prezintă sub formă de coci mai mici. In anul 1950, A. E i s e n s t a r k şi Mc. M a h o n, urmărind la microscopul cu contrast de faze şi electronic ciclul de dezvoltare la A. agile, descriu următoarele stadii morfologice: pînă la o zi - bacili mari cu capete rotunjite, cu striuri transversale de substanţă nucelară; după 2-3 săptămîni - filamente lungi, aparent ramificate; după o lună - coci, printre care se observă şi puţini bacili şi filamente; în culturi de 2-3 luni se observă exclusiv coci mici.

Ca specii ale genului Azotobacter au mai fost descrise Azotobacter beijerinckii care s-a dovedit o varietate de Azotobacter chroococcum, uşor pigmentat în galben. De asemenea, vechea specie Azotobacter vinelandii s-a dovedit o varietate de A. agile. Specia A. indicum a fost scoasă din genul Azotobacter, devenind genul Beijerinckia.

In general, speciile de Azotobacter nu se colorează prin metoda Gram, totuşi în anul 1954, unii autori au descris unele tulpini care s-ar colora Gram pozitiv.

Fiziologia genului Azotobacter. Dacă plăci de silicagel impregnate cu soluţii nutritive lipsite de azot combinat se însămînţează cu sol, după citeva zile apar numeroase colonii caracteristice genului Azotobacter. Coloniile au 6-8 mm diametru, sînt lucioase, incolore, vîscoase şi la îmbătrînire se pigmentează în brun-negricios, după care se usucă. Azoto-

bacter agile elaborează în plus un pigment verde, palid. Speciile de Azotobacter trăiesc în soluri neutre sau alcaline în limite de pH cuprinse între 5,8 şi 8,5. In ultimii ani s-au izolat şi tulpini care rezistă la un pH mai mic (4,6). Optimul de temperatură pentru Azotobacter este +28°C.

In ceea ce priveşte cerinţele faţă de O_2, se ştie că Azotobacter este un aerob strict, dar rezistă şi la proporţii de oxigen mici, apropiate de anaerobioză. In asemenea condiţii însă, fixarea azotului se desfăşoară cu un randament mic. Fiind un microorganism heterotrof, Azotobacterul are nevoie de substanţe organice ca surse de carbon energetic şi plastic. Dintre substanţele existente în sol, Azotobacter nu utilizează nici celuloza, nici hemiceluloza, nici substanţele humice, deşi în privinţa substanţelor organice simple - micromoleculare - este foarte polivalent, utilizînd: hexoze, pentoze, dioze, dextrine, amidon, gume, alcooli, polialcooli, alcooli complecşi, ca: manitol, sorbitol, eritriol, săruri a numeroşi acizi organici (inclusiv benzoic). Nu sînt utilizaţi acizii: formic, oxalic, oleic, salicilic. Dintre glucozizi, este utilizată amigdalina, dar nu şi salicina.

Valoarea nutritivă a acestor substanţe este, în general, proporţională cu căldura lor de combustie.

Randamentul fixării azotului molecular de către Azotobacter este foarte variabil în funcţie de tulpină, de sursa de carbon (fiecare tulpină putînd avea diferite preferinţe). Randamentul mai este influenţat de prezenţa anumitor elemente minerale. In general, randamentul fixării azotului molecular este de 1% faţă de carbonul utilizat. Acest fapt se datoreşte utilizării energiei carbonului în cea mai mare parte la desfăşurarea metabolismului intracelular şi sinteza macromoleculelor proteice, şi numai în mică măsură la fixarea propriu-zisă a azotului.

Desigur, aceste rezultate obţinute pe culturi în medii sintetice nu pot conduce la concluzii reale privitoare la fixarea azotului în sol, unde anumite substanţe se găsesc în cantităţi cu totul diferite faţă de mediile de cultură, iar pe de altă parte, se exclud fenomenele de asociaţie şi antagonism microbian atît de importante în sol şi care indiscutabil influenţează şi fixarea azotului de către Azotobacter. Nutriţia cu azot la Azotobacter se studiază prin dozarea azotului combinat care provine exclusiv din azotul molecular metabilizat. Dacă în solul cercetat există azot nitric, acesta influenţează fixarea de către Azotobacter în funcţie de concentraţie. La concentraţii mici (40-80 mg azot nitric pe litru de soluţia solului), fixarea este întrucîtva stimulată. La doze de peste

100 mg/l, creşterea bacteriei continuă normal, dar fixarea este simţitor micşorată. Utilizarea azotului nitric de către Azotobacter depinde de tulpină. Unele tulpini nu-l utilizează de loc, altele îl utilizează numai după o perioadă de adaptare destul de lungă, iar altele îl reduc foarte slab numai pînă la nitriţi.

Speciile de Azotobacter resimt foarte puternic influenţa sau lipsa elementelor minerale din sol sau din mediul de cultură, de unde s-a ajuns la ideea utilizării lor ca test biologic pentru constatarea diferitelor carenţe. Cerinţele Azotobacterului pentru fosfor sînt destul de ridicate; astfel, în medii de cultură lipsite de azot, concentraţia fosfaţilor trebuie să atingă 0,1 milimoli. In aceste condiţii, pentru fixarea a 5 mg azot, Azotobacter metabolizează un mg fosfor. Calciul este necesar în cantităţi mai mici de 0,001 milimoli şi se presupune că participă în însăşi fenomenul de fixare a azotului. Fierul este suficient în doze de 0,0001 milimoli, atît în medii cu azot cît şi în medii lipsite de azot combinat. Prin urmare, fierul nu participă la procesul fixării, totuşi în lipsa fierului, randamentul fixării azotului molecular este scăzut (aproape de 5 ori) faţă de cazul prezenţei sale. In aceleaşi doze sînt necesare sulful şi potasiul. Cantitatea de Mg necesară pentru dezvoltarea normală a Azotobacterului este aproximativ egală cu cea de calciu. S-a constatat că se consumă cam 0,36 mg Mg, pentru un gram de azot fixat. Molibdenul este necesar pentru dezvoltarea Azotobacterului numai în lipsa sărurilor amoniacale, iar în lipsa nitraţilor, cerinţele sînt foarte mici. Se pare că Molibdenul intră în compoziţia unei enzime care reduce nitraţii la amoniac şi care participă activ la procesul de fixare a azotului molecular. Aceasta este dovedit de faptul că în lipsa azotului combinat fără molibden, Azotobacterul nu fixează azot molecular. Pentru creşterea normală a Azotobacterului în condiţii de lipsă de azot combinat, doza de molibden necesară este de 0,0001 milimoli. După H o r n e r şi B u r k (1942) se precizează că între doza optimă şi o doză de 1 000 ori mai mică, intensitatea fixării azotului scade de 10 pînă la 30 de ori, iar randamentul scade de 2-3 ori. Molibdenul poate fi parţial înlocuit de vanadiu. De asemenea, mai sînt necesare următoarele microelemente: Cu, Mn, Co, Al, Zn, Sr, Ba, Bi, Li, As.

Ca produşi finali ai metabolismului în afară de produşii de sinteză celulară, mai apare CO_2 şi H_2O. Carbonul din CO_2 reprezintă 70% din carbonul glucidic utilizat. In corpul Azotobacterului, raportul între C şi N este în jurul lui 7, azotul total reprezentînd cam 10% din greutatea

uscată. Din cenuşă 60% reprezintă acidul fosforic. Cantitatea de polizaharide sintetizate pentru constituirea capsulei este variabilă. In urma hidrolizei capsulei se obţin zaharuri reducătoare dextrogire. Azotobacter mai sintetizează un pigment melanic care colorează în brun-negru coloniile bătrîne. F.F. A l l i s o n (1948) a pus în evidenţă sintetizarea de către Azotobacter a numeroase vitamine: biotină, inozitol, acid nicotinic, acid pantotenic, piridoxină, iar F. B u k a t s c h şi J. H e i t z e r (1952) au pus în evidenţă capacitatea Azotobacterului de a sintetiza corpi auxinici. Toate acestea subliniază rolul posibil al Azotobacterului în întreaga biologie a solurilor şi mai cu seamă în rizosferă.

Beijerinckia indicum a devenit specie tip a unei noi familii în urma studiului lui H.G. D e r x (1950), care constată deosebirile morfologice şi fiziologice între vechea specie Azotobacter indicum şi celelalte specii ale genului Azotobacter. Ca rezultat, Azotobacter indicum devine Beijerinckia indicum, morfologic se prezintă ca bacili (2-3,0 0,5-1,0 microni), uneori uşor curbaţi, nesporulaţi. In stadii tinere sînt mobili, peritrihi. La capete prezintă corpi foarte refringenţi, sferici, de constituţie lipidică. Coloniile de silicagel sînt alb-lăptoase, hemisferice, mucoase şi compacte, cu diametrul de 5-10 mm. La îmbătrînire se colorează în brun-roşcat. Microorganism strict aerob, suportă variaţii mari de pH, între 4,5 şi 9,0, optimul fiind situat la 5,6-5,8, fapt pentru care se întîlneşte mai cu seamă în soluri acide.

Ca sursă de carbon foloseşte monozaharide, dizaharide, polialcooli, glicerină, amidon; nu poate utiliza compuşi aromatici, acizi organici şi metanolul.

Are capacitatea de a fixa azotul molecular, cînd în mediu nu există azot combinat. Intensitatea fixării azotului este direct proporţională cu aeraţia. Randamentul fixării este de 1-1,4%. Utilizarea sursei de carbon este însoţită de acumularea de acizi organici.

Cerinţele în elemente minerale sînt foarte asemănătoare cu cele de la Azotobacter, în afară de calciu, care este inutil. Molibdenul nu poate fi înlocuit de vanadiu.

CHIMISMUL FIXĂRII AZOTULUI ATMOSFERIC DE CĂTRE GENUL AZOTOBACTER

Problema chimismului fixării azotului atmosferic de către Azotobacter s-a pus imediat după descoperirea acestei bacterii. Concepţiile ştiinţifice asupra acestei probleme au evoluat în trei direcţii diferite. La început s-a dezvoltat ipoteza fixării hidrolitice a azotului atmosferic printr-un stadiu de hidroxilamină sau azotit de amoniu. S-a considerat că această substanţă se formează prin reacţia azotului din atmosferă cu apa, după ecuaţia:

$$N_2 + 2H_2O \longrightarrow NH_4NO_2 \text{ (azotit de amoniu)} .$$

Mai tîrziu însă s-a stabilit că hidroliza azotului este un proces care se realizează foarte greu, şi chiar la presiuni foarte ridicate ale acestui gaz în mediu (1.10^{51} atmosfere), nu se obţin cantităţi vizibile de azot în formă hidrolizată. Asemenea presiuni sînt imposibile în culturile de Azotobacter şi deci fixarea azotului prin hidroliză nu poate avea loc. Această ipoteză a fost reluată în anul 1928, de către B l o m care, studiind capacitatea Azotobacterului de a acumula în mediu substanţe cu azot, a constatat prezenţa unor cantităţi mici de hidroxilamină. Pe baza acestor date el emite ipoteza că hidroxilamina trebuie considerată ca produs primar al fixării azotului şi că aceasta are loc cu participarea unui ferment heminic, de tip respirator, în calitatea de activator al azotului, după următoarea schemă:

$$\text{(Compus organic de } Fe^{--}) + N_2 + 2H_2O \longrightarrow \text{(compus organic de } Fe^{--}) \underset{OH}{\overset{NH=NH}{|\quad|}} \quad (1)$$
$$\underset{OH}{\overset{NH=NH}{|\quad|}} + 2H \longrightarrow \text{(compus organic de } Fe^{--}) + 2NH_2OH. \quad (2)$$

Această ipoteză nu poate fi admisă, deoarece s-a constatat că hidroliza azotului nu este posibilă nici în prezenţa fermentului heminic. După datele experimentale ale lui M.V.Fedorov, s-a reuşit să se stabilească că procesele de oxidare ale respiraţiei şi procesele de oxidare în asimilaţia azotului de către Azotobacter se desfăşoară pe suprafeţe catalitice diferite şi cu participarea unor agenţi catalitici diferiţi, de aceea nu pot avea le-

gătură directă. Prin urmare, pe baza calculelor teoretice şi a cercetărilor experimentale existente, ipoteza fixării hidrolitice a azotului atmosferic nu poate fi admisă.

A doua direcţie în analiza chimismului fixării azotului atmosferic de către Azotobacter se bazează pe reducerea lui de către hidrogenul activ. Direcţia aceasta s-a axat pe faptul că o serie de cercetări au reuşit să descopere în culturile acestui organism cantităţi mici de amoniac. Astfel, S.Kostîcev, care a constatat amoniac în culturile de Azotobacter încă înaintea epuizării sursei de carbon, a emis o ipoteză că fixarea azotului este o reacţie de reducere extracelulară, care are loc după următoarea schemă:

$$N_2 + \text{(hidrogen activat din substanţa organică)} \xrightarrow[\text{fermenţi}]{\text{Produşi primari}} NH_3 \xrightleftharpoons[\text{dezaminare}]{\text{creştere}} \text{Azotul substanţă organică din protoplasmă}$$

O schemă apropiată a fost elaborată de S.N.Vinogradski, care admite reducerea intracelulară după care amoniacul rezultat poate difuza în mediul de cultură. Schema preconizată de Vinogradski este mai pozitivă decît schema Kostîcev, deoarece localizează bine procesul de fixare în interiorul celulei. Dezavantajul ambelor scheme constă în considerarea amoniacului ca produs primar al fixării azotului molecular, ceea ce este infirmat de cercetările recente.

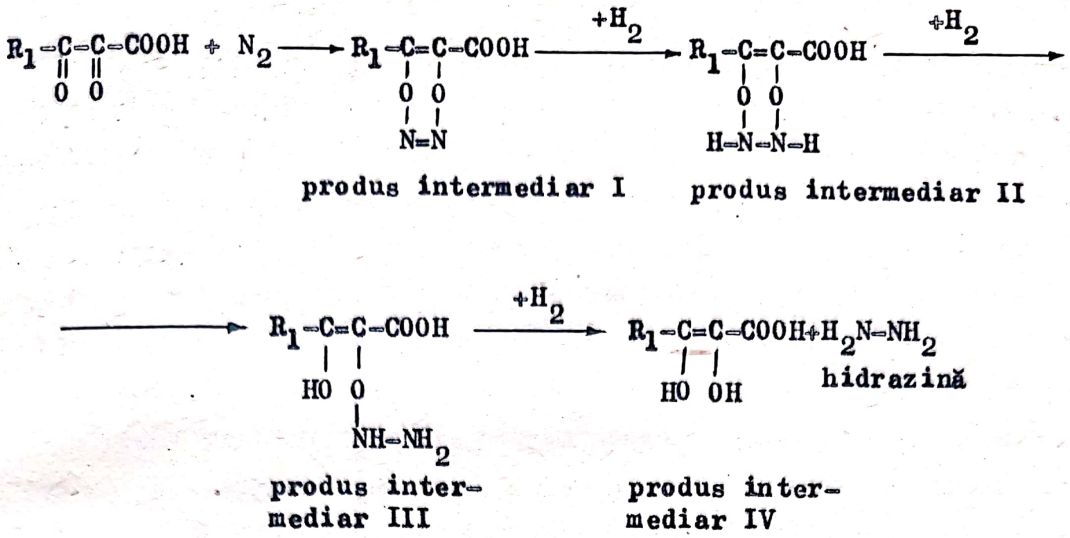
Ipoteza amoniacului, ca produs primar al fixării azotului molecular, a fost reluată de W i l s o n şi B u r r i s în anul 1947, care au studiat procesul de fixare a azotului, utilizînd azot marcat (N^{15}). Ei au urmărit azotul marcat în componentele celulare ale Azotobacterului în cazul nutriţiei cu azot molecular, precum şi în cazul asimilării amoniacului şi au constatat că în ambele cazuri, masa principală a azotului s-a găsit în aceleaşi fracţiuni ale compuşilor cu azot din protoplasma celulară, în special legat de acidul glutamic. Dacă fixarea azotului molecular s-ar face prin intermediul amoniacului, atunci amoniacul s-ar fixa mai bine pe acidul oxalacetic, din care ar rezulta acid aspartic, ceea ce nu se petrece. Fixarea specifică a azotului molecular la acidul glutamic este în legătură cu structura chimică a fermentului fixator de azot şi nu cu faptul că amoniacul ar constitui un produs intermediar al fixării azotului. Prin urmare, nici această ipoteză nu explică fixarea azotului molecular. De asemenea, acţiunea hidrogenului activat nu este

suficientă pentru reducerea azotului şi de aceea pe lîngă dehidraze, la fixarea azotului molecular trebuie să ia parte şi fermenţi care activează azotul (nitrogenaza). Dacă aceşti fermenţi ar exista într-adevăr în celulele Azotobacterului, atunci azotul activ ar putea reacţiona şi cu hidrogenul venit dinafară. Se ştie însă că hidrogenul molecular opreşte fixarea azotului molecular. De aceea, problema activizării azotului prin prezenţa în celulele Azotobacterului a fermentului nitrogenază nu poate fi confirmată. In acest fel se vede că în fixarea azotului molecular nici ipoteza hidrolizei şi nici ipoteza reducerii cu formare de amoniac nu pot fi argumentate cu destulă convingere. A treia direcţie în studiul chimismului fixării azotului molecular de către Azotobacter se bazează pe datele experimentale mai recente obţinute de M.V.Fedorov. Mai întîi s-a reuşit să se stabilească că la procesul de fixare a azotului ia parte un catalizator special care are o foarte strînsă legătură cu protoplasma celulei. Pentru determinarea naturii chimice a acestui catalizator, fără a-l izola din celulele Azotobacterului, s-a elaborat procedeul de blocare a unor procese fiziologice separate, utilizînd celulele de Azotobacter vii şi în plină activitate vitală. Gruparea prostetică a fermentului cuprinde o funcţie carboxilică, două funcţii carbonilice şi o grupare aminică legate prin intermediul unui radical de o proteină specifică, aşa cum reiese din formula:

$$Prot\text{-}R\text{-}CHNH_2\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}COOH.$$

După M.V.Fedorov, această grupare prostetică ar putea fi denumită acid dicetoaminoglutamic, dacă se presupune că prin R- este semnificat al doilea carboxil legat de proteina coloidală purtătoare.

Prin metoda blocării s-a stabilit că la fixarea azotului atmosferic participă numai grupările carbonilice învecinate. In cursul reacţiei, azotul molecular este parţial oxidat, iar grupările carbonilice sînt parţial reduse. Pe baza acestor păreri se presupune că azotul molecular reacţionează cu catalizatorul (pentru care Fedorov propune denumirea de nitrogenoxidază) prin oxigenul grupelor carbonilice, dînd produse iniţiale de fixare a azotului, de tipul hidrazinelor. Dacă pentru uşurinţă vom nota structura fermentului pînă la grupările active carbonilice cu R_1, atunci procesul se încadrează în următoarea ecuaţie:

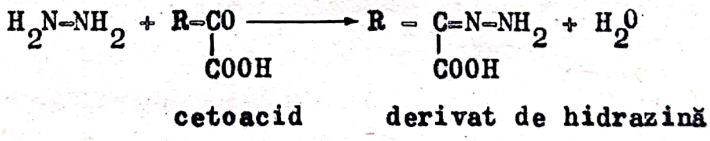


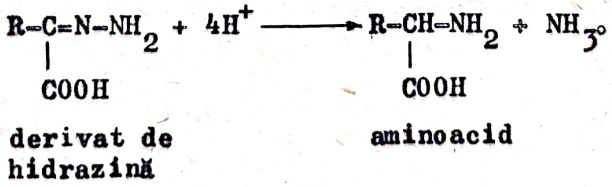
Hidrazina, reducîndu-se mai departe, trece în două molecule de amoniac: H_2N-NH_2 + dehidrază $-H_2 \longrightarrow 2NH_3$ + dehidrază.

Pe de altă parte, hidrazina poate lega o moleculă de apă trecînd într-o moleculă de amoniac şi alta de hidroxilamină:

$$H_2N-NH_2 + H_2O \longrightarrow NH_3 + NH_2OH \text{ (hidroxilamină)}.$$

Hidroxilamina se leagă probabil de cetoacizii din aminoacizi. De asemenea, este mai probabilă combinarea hidrazinei cu cetoacizii, dînd derivaţi ai hidrazinei.





In funcţie de metabolismul sursei de carbon, în protoplasma Azotobacterului hidrazina urmează una din reacţiile descrise. Cea mai normală situaţie este prezenţa hidraţilor de carbon şi mai cu seamă a cetoacizilor, cînd întreaga cantitate de hidrazină, respectiv de azot molecular fixat, intră direct în compoziţia substanţelor proteice. Amoniacul se formează numai după epuizarea cetoacizilor şi numai dacă există hidrogen mobil. In

acest caz se formează amoniac pînă la epuizarea sursei de carbon. Aşadar, amoniacul este un produs secundar al fixării azotului molecular, contrar vechilor ipoteze care îl considerau produsul primar. O dată cu epuizarea substanţelor ternare şi a hidrogenului activat, începe hidroliza hidrazinei, din care rezultă amoniac şi hidroxilamină ca produşi secundari şi anormali ai activităţii fixatorilor de azot. In condiţii normale, prin acest mecanism biochimic bacteriile fixatoare de azot introduc în circuitul biologic cantităţi enorme de azot molecular, cam 15-20 mg azot pentru fiecare gram de substanţă organică neazotată metabolizată. Aceasta îmbogăţeşte simţitor solul cu azot, ceea ce are o importanţă mare pentru agricultură.

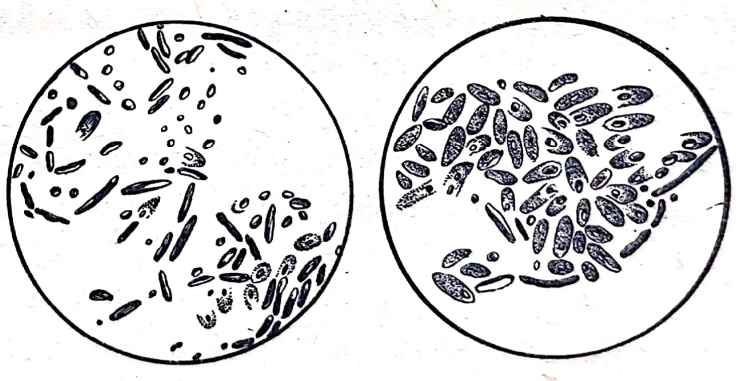
RĂSPÎNDIREA AZOTOBACTERULUI ÎN NATURĂ

In funcţie de condiţiile fizico-chimice, biologice şi climatice, diferă şi răspîndirea fixatorilor aerobi de azot. Cei mai importanţi factori pedologici care influenţează răspîndirea acestor microorganisme sînt: umiditatea, aciditatea, precum şi calitatea şi cantitatea substanţei organice din sol. Fiind organisme aerobe, Azotobacter şi Beijerinckia sînt răspîndite mai cu seamă în terenurile uşoare şi prelucrate. In solurile grele, argiloase în care condiţiile sînt apropiate de anaerobioză, Azotobacter poate să lipsească. In schimb, în solurile prelucrate, de grădină, precum şi în solurile de pădure, Azotobacter se găseşte pînă la o adîncime de 2 metri (într-o probă de sol din apropierea oraşului Zaporojie). De asemenea, Azotobacter este puţin răspîndit în solurile ce conţin prea puţin carbonat de calciu şi au o reacţie puternic acidă, aşa cum se întîmplă, de exemplu, în solurile tropicale (95% din solurile din Java, circa 70% din solurile Australiei de sud). In solurile turboase din Suedia şi Boemia, Azotobacter este foarte puţin răspîndit. In asemenea soluri, ca fixator de azot molecular domină Beijerinckia, care suportă un pH scăzut, de 5,5 (în cazul solurilor din Australia şi în cel al solurilor din Madagascar). Numai în situaţii rare, Beijerinckia se poate întîlni în solurile neutre. Umiditatea solului influenţează distribuţia fixatorilor de azot în sensul că Azotobacter şi Beijerinckia predomină în solurile bine aerisite şi neinundabile, deşi au fost semnalaţi şi în terenuri grele, în regiunea Volgăi, care sînt frecvent i n u n d a t e. Influ-

enţa humusului asupra răspîndirii Azotobacterului şi Beijerinckiei pare să fie neînsemnată. Este sigur că podzolirea este cu totul nefavorabilă, probabil datorită lipsei de molibden şi bor în solurile podzolice. In privinţa influenţei fosforului, este cunoscut că lipsa lui împiedică total dezvoltarea Azotobacterului, de aceea în solurile lipsite de fosfor, Azotobacter se poate găsi în stare de viaţă latentă. In această situaţie, administrarea de îngrăşăminte fosfatice stimulează dezvoltarea intensă a Azotobacterului şi prin aceasta se îmbunătăţeşte bilanţul azotului combinat din sol.

FIXAREA AZOTULUI MOLECULAR DE CĂTRE GENUL CLOSTRIDIUM

In condiţii anaerobe, şi chiar apropiate de aerobioză, cînd Azotobacter nu-şi mai poate executa normal activitatea vitală, fixarea azotului molecular este executată de diferite specii şi forme ale genului Clostridium. Cea mai importantă şi răspîndită specie este Clostridium pastorianum figura 91. Aceasta este prima tulpină de fixator de azot molecular descoperită de Vinogradski, în anul 1893.



1 2

Fig.91. Clostridium pastorianum; 1- cultură tînără cu bacili; 2- stadiu de sporulare. (După M.V. Fedorov.)

Morfologic se prezintă ca nişte bastonaşe, de lungime variabilă (1,5-8 microni) şi grosime diferită (0,8-1,3 microni). Este mobil, cu cili peritrihi şi capete rotunjite. In timpul sporulării devine fuziform datorită poziţiei centrale a sporului, care are un diametru de 1,3-1,6 microni. Poate fi cultivat în condiţii anaerobe pe medii nutritive lipsite de azot combinat, cu un pH=5,5-8, cînd se dezvoltă colonii mucilaginoase de culoare galbenă-albicioasă. Bacteria este

Gram pozitivă. Ca substanţă de rezervă este granuloza, fapt pentru care în prezenţa iodului, celulele se colorează mai mult sau mai puţin în violet.

Temperatura optimă pentru desfăşurarea activităţii vitale a bacteriei Clostridium este cuprinsă între +20° şi 30°C. La temperaturi mai ridicate apar forme de involuţie. Sporii rezistă şi la temperaturi mai ridicate (cîteva minute la +96°C şi sînt distruşi imediat la +100°C). Sporii rezistă foarte mult în stare uscată (25 ani în experienţele lui Omelianski).

Ca sursă de carbon Clostridium utilizează numeroase monozaharide: zaharogă, glicerînă, manitol, dextrină, inulină. Din acest punct de vedere, Clostridium este o bacterie butirică tipică, fermentînd hidraţii de carbon cu formare de acid butiric, acetic şi gaze. In culturi bătrîne apar forme de involuţie sferice, filamentoase. Cultivat pe cartof sterilizat, în condiţii anaerobe, formează colonii mucilaginoase galbene.

Nutriţia cu azot la Clostridium, mai ales în medii lipsite de azot combinat, se realizează prin fixarea azotului molecular. Randamentul acestei fixări este destul de scăzut (0,2 - 0,3%). Intensitatea fixării azotului atmosferic depinde în foarte mare măsură de condiţiile nutritive ale mediului. Randamentul fixării azotului molecular este cu atît mai mare cu cît concentraţia în zaharuri a mediului este mai mică. Randamentul fixării creşte simţitor apropiindu-se de randamentul Azotobacterului, dacă pe lîngă condiţiile optime de concentraţie a glucidelor există şi urme de azot amoniacal (2 mg la litru) care accelerează primele etape ale proliferării bacteriei. Dacă doza de azot amoniacal creşte la 16 mg la litru de mediu (ca în experienţele lui Vinogradski), fixarea azotului este complet inhibată . Substanţele organice cu azot, de exemplu, peptona, frînează şi mai puternic procesul de fixare a azotului atmosferic. Pentru dezvoltarea normală a bacteriei, pe lîngă elementele minerale de bază, Clostridium cere în mod obligatoriu şi microelemente , dintre care cel mai esenţial este molibdenul.

Capacitatea speciilor de Clostridium de a fixa azotul atmosferic a fost verificată recent prin metoda atomilor marcaţi.

Asupra naturii chimice a procesului de fixare a azotului molecular de către Clostridium, s-a pronunţat încă Vinogradski, acum mai bine de 60 de ani, care a presupus că în protoplasma microorganismului are loc o reacţie între azot şi hidrogenul activat din care rezultă amoniac. Aceste idei nu au putut fi argumentate de autorul lor şi nici n-au fost con-

firmate de cercetări ulterioare. Recent s-a remarcat comportarea asemănătoare a Azotobacterului şi Clostridium-ului faţă de anumiţi compuşi cu azot şi faţă de anumiţi inhibitori ai fixării. Pornind de la acestea s-a presupus că natura chimică a fixării azotului molecular este asemănătoare în cazul ambelor microorganisme. Cu toate că este obligat anaerob, Clostridium ar putea obţine oxigenul activ din compuşi micromoleculari cu proprietăţi oxidante care se formează în cursul fermentaţiei butirice. Clostridium este o bacterie anaerobă fixatoare de azot molecular destul de răspîndită în natură, substituind în întregime Azotobacterul mai cu seamă în solurile saturate cu apă şi bogate în substanţe organice. Aceeaşi activitate biochimică o desfăşoară şi alte specii anaerobe din genul Clostridium: C. acetobutilicum, C. felsineum, C. lactoacetophilum, C. madisoni, C. pectinovorum, C. butyricum etc. O varietate de Clostridium pastorianum, descrisă de P r i n g s h e i m, în anul 1909, este considerată microaerofilă, deoarece se caracterizează prin toleranţă la tensiuni de oxigen destul de ridicate.

Speciile genului Clostridium sînt răspîndite şi în soluri afînate, aerisite, numai că în acest caz ele intră în relaţii de metabioză cu diferite specii aerobe, care consumă oxigenul din atmosfera solului. Această metabioză este mai avantajoasă decît anaerobioza, deoarece bacteriile aerobe, consumînd oxigenul din imediata apropiere a Clostridiilor, nu consumă şi azotul molecular care este strict necesar vieţii acestora. Totodată, Clostridium, fixînd azotul atmosferic, îl redă parţial în formă combinată în mediul ambiant, ceea ce îmbunătăţeşte condiţiile de existenţă a bacteriilor aerobe. Pe baza acestei metabioze se constituie o biocenoză care poate exista şi în condiţiile unei lipse aproape totale de azot combinat în mediu. Toleranţa faţă de oxigen şi metabioza cu bacteriile aerobe fac din Clostridium un fixator de azot mai răspîndit decît Azotobacter.

ALTE BACTERII NESIMBIOTICE FIXATOARE DE AZOT MOLECULAR

Un număr mic de alte bacterii posedă, de asemenea, capacitatea de a fixa azot molecular. Importanţa fixării de către aceste bacterii este neînsemnată datorită intensităţii şi randamentului mic al fixării. Un

exemplu de asemenea bacterie este Azotomonas insolita izolată în cultură pură în Birmania de către C. S t a p p, în anul 1940, din coji măcinate de orez. Din punct de vedere morfologic şi cultural, bacteria seamănă cu Azotobacter, deşi taxonomic genul Azotomonas este apropiat de Pseudomonas. Este un bacil Gram negativ, nesporulat, ale cărui dimensiuni variază în funcţie de compoziţia mediului nutritiv între 0,5 şi 1,2 x 0,6 x 1,8 microni. Formează capsule mucilaginoase, are un singur cil. Limitele de temperatură în care creşte sînt cuprinse între +7 şi +48°C, optimul fiind situat între 25 şi 30°C (este răspîndit numai în regiuni tropicale). Suportă limite foarte largi de pH între 4,5 şi 8,8. Se dezvoltă în condiţii aerobe şi anaerobe. Pe geloză cu cartof formează coloniile cu marginile îngroşate şi centru bombat. Randamentul fixării azotului ajunge la 1,1%. Şi la Azotomonas, fixarea este stimulată de prezenţa molibdenului. Prezenţa sărurilor de amoniu opreşte creşterea celulelor. In anul 1947, din microflora solului din Moscova, N. K r a s i l n i k o v a izolat forma Azotomonas fluorescens (fig.92), care se prezintă ca bacil cu 1-3 cili polari de 0,5 - 0,8 x 2 - 5 microni, iar coloniile sînt albe-verzui datorită unui pigment pe care îl eliberează în mediu. Ca sursă de carbon utilizează zaharuri, alcooli şi acizi organici. Randamentul fixării azotului molecular este slab, nedepăşind 0,5%.

Fig.92. Azotomonas fluorescens:
1- cultură tînără; 2- aceeaşi cultură după 3 zile. (După M.V.Fedorov)

Alte bacterii, ca Bacillus asterosporus, B. hydrogenes fixează, de asemenea, azot molecular, dar cu randament mult mai mic, 0,1 - 0,2%.

FIXAREA AZOTULUI MOLECULAR DE CĂTRE CIUPERCI

In general se presupune că ciupercile din micorize au şi capacitatea de a fixa azot molecular, ceea ce ar prezenta un avantaj în plus pentru planta superioară care intră în asemenea relaţii de simbioză. Totuşi, acest lucru este verificat numai pentru Phoma betae care primeşte de la

plantă carbon asimilabil şi-i furnizează azotul necesar pe care-l fixează din atmosferă. Astfel, planta superioară este independentă faţă de condiţiile nutriţiei azotate din sol. La fel este cazul Ericaceelor care se dezvoltă bine pe soluri sărace în azot asimilabil, datorită micorizelor ectotrofe care se dezvoltă pe rădăcinile lor.

Capacitatea micorizelor endotrofe de a fixa azot molecular este încă neconfirmată.

FIXAREA AZOTULUI MOLECULAR DE CĂTRE ALGE

Capacitatea algelor verzi de a fixa azotul molecular este îndoielnică. S-a remarcat că pe solurile pe care primăvara apare o peliculă de alge verzi, se obţin recolte mai bune. Aceasta s-a verificat în vase de vegetaţie cu nisip şi expuse la lumină. Nisipul se acoperă cu o peliculă verde, iar prin dozări s-a constatat o creştere a cantităţii de azot. Aceasta nu se petrece la vasele ţinute la întuneric sau cu nisip sterilizat. Imperfecţiunea acestor experienţe constă în posibilitatea prezenţei în substrat a unor fixatori de azot, ca Azotobacter şi Clostridium, care îşi găsesc sursa de carbon în produşii de metabolism eliberaţi de alge. Lucrînd pe substrat steril şi cultură pură de Chlorella, chiar în prezenţa unor cantităţi mici de zaharuri, P. S. K o s s o v i c i n-a constatat fixarea de azot şi nici dezvoltarea algei. Dacă în aceleaşi condiţii, se introduc şi bacterii din sol, fixarea se desfăşoară intens. Concluzia experienţelor lui Kossovici precizează incapacitatea algelor de a fixa azot atmosferic.

Capacitatea algelor albastre de a fixa azot atmosferic a fost bănuită de F r a n k (1889), dovedită de K. D r e w e s (1928) şi confirmată cu ajutorul N^{15}, în anul 1952 de către A. E. W i l l i a m s şi R. H. B u r r i s. Unele alge albastre se pot dezvolta pe medii lipsite de azot care conţin fosfaţi, ceea ce dovedeşte capacitatea acestor alge de a fixa azot atmosferic. Speciile de alge albastre fixatoare de azot aparţin familiei Nostocaceae şi în special la patru genuri: Nostoc (N. punctiforme, N. muscorum, N. paludosum); Anabena (A. variabilis, A. gelatinosa, A. naviculoides, A. hummicola, A. fertilissima); Cylindrospermum (C. licheniforme, C. majus); Anbosira (A. fertillissima).

Mecanismul enzimatic al fixării azotului atmosferic, după R.H.B u r r i s şi P.W. W i l s o n (1946), este asemănător cu cel de la Azotobacter, iar molibdenul este la fel de necesar. Reacţia optimă este uşor alcalină, limita inferioară fiind pH = 5,7. Datorită capacităţii lor de a asimila azotul atmosferic şi totodată CO_2 prin fotosinteză, algele albastre pot fi considerate ca cele mai autotrofe organisme vegetale. Procesul de fixare a azotului molecular continuă şi cînd algele trăiesc în profunzimea solului într-un regim heterotrof de nutriţie. Algele albastre sînt răspîndite în solurile neutre şi alcaline şi au un rol deosebit de important în solurile inundate ale orezăriilor în care Azotobacter lipseşte. In asemenea soluri, algele albastre fixează 15-50 kg azot pe hectar (P.D e şi L. M a n d a l, 1956). Algele albastre fixatoarede azot mai sînt importante, deoarece reprezintă primele fiinţe vii care populează rocile iniţiale, dezagregate fizic, ca prim moment al procesului de solificare . Se ştie că rocile iniţiale şi mai cu seamă cele magmatice nu conţin compuşi de azot şi prin dezvoltarea algelor albastre se creează treptat condiţiile de nutriţie necesare dezvoltării altor plante.

FIXAREA AZOTULUI MOLECULAR DE CĂTRE MICROORGANISME SIMBIOTICE

Incă din antichitate, agricultorii au observat că prin cultura plantelor leguminoase, lucernă, măzăriche şi în special trifoi, solul devine mai fertil şi recolta de cereale semănate după leguminoase este mai mare. Cauza acestei sporiri n-a putut fi dovedită decît în prima jumătate a secolului al XIX-lea şi este legată de observaţiile lui B o u s s i n g a u l t. El a stabilit experimental că trifoiul şi mazărea cultivate pe medii cu cantităţi mici de azot asimilabil pot utiliza azotul atmosferic. In urma acestei constatări, o serie de autori au contrazis aceste afirmaţii, considerînd că plantele nu pot utiliza azotul atmosferic. După 20 de ani, Boussingault a reluat experienţele sale, dar pentru obţinerea unor date mai exacte el a calcinat nisipul din vasele de cultură şi aceasta pentru a îndepărta ultimele urme de compuşi cu azot. Prin această operaţie au fost distruse şi bacteriile de nodozităţi existente în sol,

care în simbioză cu rădăcinile leguminoaselor, asimilează azot atmosferic şi îl transferă plantelor-gazdă. In aceste condiţii de sterilitate, leguminoasele ca şi celelalte plante nu pot utiliza azotul molecular. Ulterior, H e l l r i e g e l şi W i l f a r t h (1886) reiau aceste experienţe şi dovedesc că concluziile lui Boussingault sînt juste. Ei demonstrează experimental că dacă adaugă solului calcinat o cantitate mică de sol necalcinat, leguminoasele cresc şi se dezvoltă bine, pe cîtă vreme neleguminoasele nu se dezvoltă de loc. Această experienţă arată necesitatea microorganismelor în viaţa leguminoaselor. Examinînd rădăcinile leguminoaselor au observat prezenţa unor umflături (nodozităţi mici) şi au pus asimilarea azotului molecular pe seama acestor nodozităţi. In urma experienţelor lui Hellriegel s-a văzut clar cauza pentru care B o u s s i n g a u l t nu a putut constata surplusuri de azot fixate de către leguminoase. Prin măsurile de sterilitate pe care le luase, făcuse imposibilă infecţia de către microorganisme. In anul 1888, B e i j e r i n c k îl izolează pe Bacillus radicicola (denumit mai tîrziu Bacterium radicicola), în cultură pură, pe infuzie de mazăre cu 7% gelatină. Coloniile conţineau bacili de 1 x 4 - 5 microni, precum şi numeroase forme ramificate. Aceste bacterii s-au dovedit capabile de a infecta rădăcinile leguminoaselor şi de a fixa azotul molecular în simbioză cu ele.

MORFOLOGIA ŞI FIZIOLOGIA BACTERIILOR DE NODOZITĂŢI

Bacterium radicicola sau după ultima nomenclatură Rhizobium sp. prezintă un ciclu de dezvoltare, în cursul căruia morfologia şi fiziologia acestor bacterii se schimbă (fig. 93). Formele de bază se prezintă ca bacili imobili cu protoplasmă uniformă, cu dimensiuni care variază între 0,5 şi 1,0 x 1,0 - 7,0 microni. Pe măsura îmbătrînirii, în protoplasmă se diferenţiază zone mai colorabile, mai cu seamă cu coloranţi de anilină şi zone mai puţin colorabile în care sînt concentrate substanţe grase. Mai târziu, sau în cazul modificării condiţiilor de mediu, apar bacili strangulaţi, cocі, bacteroizi. In unele cazuri aceste modificări pot căpăta un caracter tipic. Modificări morfologice importante survin în prezenţa unor substanţe azotate. In prezenţa unor aminoacizi, a extractului de drojdii, apar forme elipsoidale şi rotunde adaptate la prezenţa azotului organic, dar lipsite de capacitatea de a fixa azot molecular şi de

a infecta rădăcinile plantelor leguminoase. In ciclul morfologic al bacteriei Rhizobium, formele imobile descrise sînt precedate de forme mobile ciliate. S-a constatat că tipul de ciliaţie diferă după rasele de bacterii. O fază interesantă în ciclul morfologic la Rhizobium este formarea

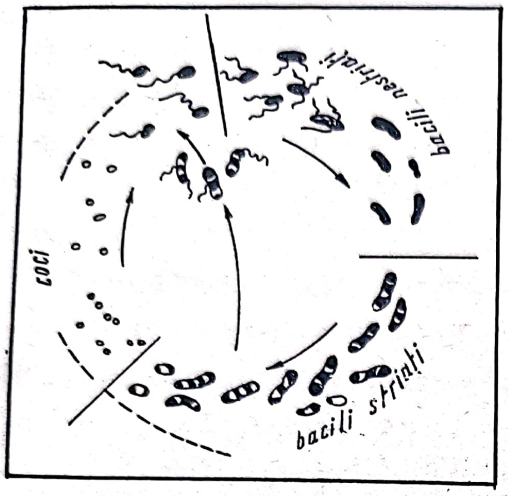


Fig.93. Ciclul de dezvoltare la Rhizobium. (După M.V.Fedorov .)

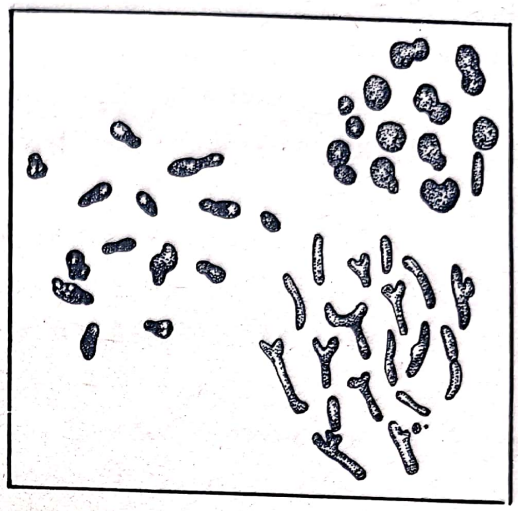


Fig.94. Diferite tipuri de bacteroizi. (După M.V.Fedorov.)

de bacteroizi care sînt forme ramificate, de obicei caracteristice raselor fiziologice (fig.94). Aceşti bacteroizi se formează şi în culturile pe medii artificiale, mai cu seamă cînd se adaugă cantităţi mici de acizi organici sau extracte din plantele leguminoase. Intrucît această fază apare în interiorul nodozităţilor, s-a presupus că ar fi determinată tocmai de aciditatea sucului vacuolar. In prezenţa KNO_3 atît în culturi cît şi în soluri, se observă o trecere rapidă a bacteriilor de nodozităţi pe rădăcinile leguminoaselor cultivate pe soluri bogate în azotaţi. Speciile de Rhizobium sînt Gram negative. K.A. B i s s e t, în urma cercetărilor sale, luînd în consideraţie criterii morfologice, ecologice şi biochimice, crede că negativitatea faţă de coloraţia Gram se datoreşte pierderii acestei proprietăţi ca urmare a degenerescenţei speciei în legătură cu viaţa parazitară. In corpul celulei de Rhizobium, mulţi autori afirmă existenţa unui nucleu diferenţiat a cărui structură internă este încă necunoscută. J. V o e t s (1949) aplicînd coloraţia Giemsa a descris la Rhizobium trifolii formarea prin diviziunea nucleului din celula-mamă a patru nuclei diferenţiaţi care se repartizează cîte doi în celule-fiice. De asemenea, F.G. B e r g e r s e n (1955) descrie în bacteroizii nodozităţilor eficiente un aparat nuclear diferenţiat înconjurat de o zonă perinucleară la exteriorul căreia se găsesc citoplasma şi granule asemănătoare mitocondriilor. După acelaşi autor, la bac-

teroizii nodozităţilor neeficiente, regiunea perinucleară lipseşte, iar în citoplasmă se acumulează mult glicogen.

In privinţa rolului bacteroizilor, în ciclul de dezvoltare al bacteriei şi în fixarea azotului molecular, părerile sînt împărţite. Unii autori consideră bacteroizii ca formă de involuţie incapabile de a fixa azot, alţii din contra, le atribuie un rol esenţial în acest proces. Cea mai verosimilă ipoteză este aceea care consideră că procesul de fixare a azotului atmosferic începe încă din fazele timpurii ale ciclului de dezvoltare, procesul desfăşurîndu-se atît cu participarea formelor bacilare cît şi a bacteroizilor tineri. De aceea, intensitatea maximă a fixării azotului atmosferic se observă în faza de creştere a nodozităţilor. După caracteristicile culturilor şi viteza de creştere a coloniilor, bacteriile de nodozităţi se împart în două grupe. In prima grupă intră rase de Rhizobium care se dezvoltă foarte repede (4-7 zile), pe medii solide cu zahăr, dînd colonii mari cu bacteroizi foarte umflaţi (piriformi sau chiar sferici). In această grupă intră rasele care infectează mazărea, trifoiul, lucerna, sparceta, lintea şi salcîmul. In a doua grupă intră rase ale căror colonii se dezvoltă încet (9-15 zile) şi formează bacteroizi în formă de bastonaşe, cum sînt bacteriile care infectează soia, lupinul şi seradela. In general, bacteriile de nodozităţi preferă mediile minerale sintetice, iar azotul organic frînează creşterea lor.

Limitele de temperatură pentru creşterea bacteriilor de nodozităţi sînt cuprinse între 0 şi 47^{0}C, optimul fiind situat între 2o şi 31^{0}C.

Reacţia optimă este între pH=6,5 şi 7,2. Speciile de Rhizobium sînt aerobe mai mult sau mai puţin stricte. Respiraţia bacteriilor de nodozităţi este stimulată de unii aminoacizi (în special de glicocol), de sărurile minerale azotate. Metabolismul carbonului este foarte polivalent. Rhizobium utilizează monozaharide, dizaharide, polialcooli şi glicogeni. Din carbonul glucozei, 6o-8o% este transformat în CO_2 şi numai restul este folosit la sinteze intracelulare şi producere de gume în care sînt împlîntate bacteriile în interiorul nodozităţii. Buna utilizare a hidraţilor de carbon depinde de prezenţa în mediu a $CaCO_3$, în lipsa căruia este incomplet şi se acumulează acizi organici. O mare importanţă în metabolismul acestor bacterii o au elementele minerale: azot (sub formă moleculară), fosfor, sulf, potasiu, magneziu, calciu. Dintre microelemente, fierul şi molibdenul sînt deosebit de necesare intrînd în compoziţia fermenţilor legaţi de fixarea azotului molecular. Comportarea diferitelor tulpini de Rhizobium faţă de diferite surse de azot e s t e

variabilă. In cazul anumitor tulpini, orice sursă de azot combinat inhibă dezvoltarea. Alte tulpini se dezvoltă bine numai în prezenţa azotului mineral, iar altele utilizează surse de azot organic, inclusiv azot proteic. Adaptarea bacteriilor de nodozităţi la medii cu azot combinat duce la pierderea capacităţii de a fixa azot molecular şi de a infecta rădăcinile leguminoaselor. In condiţii naturale este strict necesară prezenţa fosforului şi a potasiului în sol care, direct proporţional cu doza, accelerează infecţia rădăcinilor şi intensitatea fixării azotului molecular. Pe medii de cultură se mai observă acţiunea favorabilă a diferitelor substanţe de creştere, mai ales din grupa bios, din care unele stimulează creşterea şi capacitatea bacteriilor de a forma acizi organici. Se crede că gumele secretate de bacteriile de nodozităţi ar conţine unii factori de creştere, printre care biotina şi substanţe auxinice.

SPECIFICITATEA FAŢĂ DE GAZDĂ SI SISTEMATICA GENULUI RHIZOBIUM

Specificitatea faţă de gazdă a diferiţilor reprezentanţi ai genului Rhizobium constituie o problemă controversată, deşi în genere se recunoaşte că la soia, lupin şi bob, specificitatea tulpinilor faţă de gazdă este foarte relativă. Bacteriile ce formează nodozităţi pe rădăcinile de Vicia faba pot infecta la fel de bine speciile de Phaseolus, Genista, Acacia şi Cassia. Din contra, rasele care infectează trifoiul au o specificitate strictă. In cadrul genului Rhizobium sînt admise mai multe specii, în limitele cărora se disting rase fiziologice.

Rhizobium trifolii. Au celulele de 0,6 x 2,3 microni, mobile. Se poate cultiva pe infuzii de fasole ca şi pe medii lipsite de azot. Ca sursă de carbon, utilizează zaharurile, caz în care formează acizi organici. Are o specificitate accentuată faţă de trifoi.

Rhizobium phaseoli. Este o formă foarte răspîndită în sol, specifică rădăcinilor de fasole. Pe medii cu azot organic generează forme de involuţie (bacteroizi). Celule de 1,6 x 2 - 5 microni, mobile, cu cili polari.

Rhizobium meliloti este caracteristică pentru lucernă şi sulfină. Coloniile pe medii agarizate sînt albe, puţin întinse, producînd mucus

puţin sau de loc. Celulele sînt mobile, mici, (0,6 ÷ 0,7 x 1 - 2 microni). Se dezvoltă bine şi pe medii cu azot organic (peptonă); nu prezintă forme de involuţie.

Rhizobium leguminosarum infectează numeroase leguminoase spontane şi de cultură, printre care şi mazărea, sîngele voinicului, măzărichea, lintea pratului şi năutul. Pe geloză dă colonii mucilaginoase întinse. Se dezvoltă slab în prezenţa azotului proteic ca şi în lipsa totală a azotului. Celulele sînt de 0,7 x 2 - 5 microni, mobile, cu cili polari.

Rhizobium ornithopi formează nodozităţi pe rădăcinile de Ornithopus (seradela). Coloniile pe medii agarizate sînt mărunte şi mucilaginoase. Celulele sînt mobile, cu cili polari, de dimensiuni 0,6 x 3-6 microni. Se dezvoltă bine pe medii sintetice.

Rhizobium japonicum infectează rădăcinile de soia. Pe medii minerale, agarizate, dă colonii mici, transparente. Celulele sînt de dimensiuni mijlocii (0,7 x 2 - 5 microni) şi nu prezintă forme de involuţie. E răspîndit în special în regiunile sudice.

Rhizobium lupini. Are celulele de 0,6 x 5 - 7 microni, mobile, cu cili polari, fără forme de involuţie. Infectează de obicei rădăcinile de lupin. Nu se dezvoltă pe medii total lipsite de azot şi nici pe medii cu azot proteic. Coloniile sînt mici, păstoase. Specificitatea de gazdă relativă a bacteriilor din grupul soii şi lupinului pune la îndoială distincţia între speciile Rhizobium japonicum şi Rh. lupini.

In ceea ce priveşte poziţia sistematică a genului Rhizobium, părerile sînt împărţite. K.A. B i s s e t, bazat pe capacitatea de colorare Gram şi pe caracteristici ecologice şi biochimice, consideră Rhizobium ca un gen specializat al familiei Bacillaceae, N. K r a s i l n i k o v ataşează genul rhizobium la familia Pseudomonadaceae, iar după clasificaţia lui D.H. Bergey, genul Rhizobium aparţine ordinului Eubacteriales, familia Rhizobiaceae.

CHIMISMUL FIXĂRII AZOTULUI MOLECULAR DE CĂTRE BACTERIILE DE NODOZITĂŢI

Chimismul fixării azotului molecular de către bacteriile de nodozităţi pînă în prezent rămîne neclarificat. Totuşi, în literatura de specialitate sînt cunoscute două ipoteze: ipoteza hidrolitică, elaborată de V i r t a n e n, conform căreia produsul primar ar fi hidroxilamina şi

ipoteza reductivă, elaborată de S.N. Vinogradski, conform căreia produsul primar este amoniacul.

Teoria hidroxilaminei porneşte de la faptul constatat al schimbării culorii nodozităţilor în diferite condiţii de mediu şi care s-ar datora unor variaţii în structura chimică a anumitor pigmenţi heminici, hemoglobina şi methemoglobina (leghemoglobină, după A.I. Virtanen).

S-a constatat că nodozităţile tinere pe plante în creştere, în zilele luminoase, au o culoare roşie care trece în brun, în zilele întunecoase. La întuneric continuu, nodozităţile devin verzi. Înverzirea nodozităţilor se poate realiza şi prin tratarea cu acid ascorbic. Paralel cu aceste variaţii de culoare variază şi conţinutul de acid oxalacetic în sucul nodozităţii. De aceea s-a presupus că în cursul transformărilor reciproce ale pigmenţilor heminici, aceştia execută procese de oxido-reducere în cursul cărora azotul trece în hidroxilamină. Hidroxilamina rezultată este fixată de acidul oxalacetic şi sub formă de acid aspartic este introdusă în metabolismul bacteriilor sau al plantei-gazdă, ceea ce determină variaţii cantitative ale conţinutului de acid oxalacetic, probabil dependente de transformările pigmenţilor heminici. Schematic, procesul este reprezentat prin următoarele ecuaţii:

$$N_2 + \text{methemoglobina} - Fe^{+++} + H_2O \longrightarrow NH_2OH + \text{hemoglobină} - Fe^{++}$$

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow COOH{-}CO{-}CH_2{-}COOH \text{ acid oxalacetic}$$

$$HOOC{-}C{=}N{-} \quad (OH){-}CH_2{-}COOH + H_2O \text{ compus intermediar}$$

$$+ 4H^+$$

$$HOOC{-}CHNH_2{-}CH_2{-}COOH + H_2O \text{ acid aspartic}$$

A doua ipoteză, reductivă, asupra fixării azotului molecular a fost emisă de S.N. Vinogradski, care a observat că nodozităţile uscate degajă amoniac simplu. El a presupus că azotul atmosferic este redus de hidrogenul activ furnizat de dehidraze, după următoarea ecuaţie:

$$N_2 + 6H^+ \longrightarrow 2NH_3.$$

Experienţele lui Vinogradski nu sînt suficiente pentru a susţine această ipoteză, deoarece nu se poate stabili echivalenţa chimică între azotul fixat şi amoniacul degajat de nodozităţile triturate în prezenţa unui antiseptic. Pe de altă parte, este cunoscut că hidrogenul activat nu poate reacţiona cu azotul molecular.

M.V.Fedorov a elaborat o nouă ipoteză asupra fixării azotului molecular de către bacteriile de nodozităţi. Bazat pe experienţe în care s-a stabilit că bacteriile de nodozităţi şi Azotobacterul se comportă la fel faţă de anumiţi factori de mediu, el presupune că mecanismul chimic de fixare a azotului molecular la Rhizobium este identic cu cel de la bacteriile libere cu participarea unor fermenţi asemănători, în care gruparea activă conţine funcţii carbonilice alăturate. Astfel, bacteriile de nodozităţi se comportă la fel cu Azotobacter în cazul acţiunii anumitor inhibitori sau activatori ai fixării azotului atmosferic. De asemenea, microorganismele simbiotice se comportă la fel cu cele libere în cazul prezenţei în mediu a unor compuşi cu azot. Procesul decurge în ambele cazuri la un potenţial oxido-reducător înalt, ceea ce explică acţiunea favorabilă şi acumularea în nodozităţi a molibdenului şi borului. In acest proces, cetoacizii au o importanţă mare ca acceptori ai hidrazinei şi totodată precursori ai aminoacizilor. Dintre cetoacizi, cei mai importanţi sînt acizii oxalacetic şi cetoglutaric, deoarece s-a observat că N^{15} furnizat bacteriilor în stare moleculară se regăseşte în acizii aspartic şi glutamic.

Cu toate aceste cercetări şi rezultate care tind să elucideze mecanismul intim al fixării azotului molecular, acesta rămîne obscur, enzimologia sa aproape necunoscută şi nici una din teoriile existente nu merită pînă în prezent o adeziune totală (H.G. T h o r n t o n).

ALTE PLANTE CARE FORMEAZĂ NODOZITĂŢI

In afară de leguminoase, se cunosc şi alte plante, aparţinînd celor mai diferite grupe sistematice, care au proprietatea de a intra în relaţii simbiotice cu microorganisme fixatoare de azot. Astfel, M.S. V o r o n i n a descoperit pe rădăcinile de Alnus (arin) numeroase nodozităţi. La analiză s-a stabilit că nodozităţile sînt pline cu o bacterie simbiotică asemănătoare cu bacteriile nodozităţilor de la leguminoase şi care are capacitatea de a asimila azotul atmosferic. Experienţele au dovedit că în lipsa acestor bacterii, puieţii de arin cultivaţi în medii lipsite de azot nu se dezvoltă normal. Din nodozităţile de arin, s-au izolat în cultură pură cîteva bacterii. Fiecare din aceste bacterii nu poate infecta rădăci-

na de arin şi nu este capabilă de a fixa azotul atmosferic în cultură pură. Se poate presupune că în afară de simbioza cu arinul, diferitele bacterii intră mai întîi în relaţii reciproce de metabioză. Nodozităţi pe rădăcini se mai formează şi la plante, ca: Coriaria, Cianotus, Myrica, Aeleagnus etc.

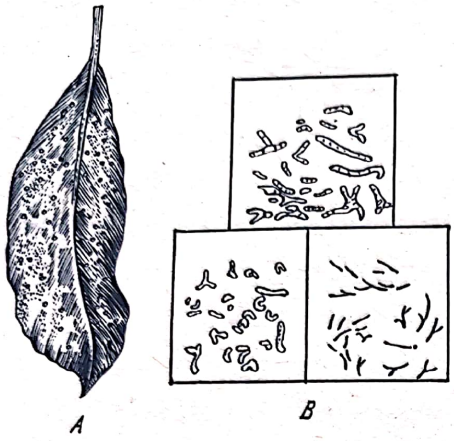


Fig.95. Nodozităţi pe frunzele de Pavetta indica (A) şi aspectul microscopic al Bacterium rubiaceum (B). (După M.V. Fedorov.)

Mai interesant este cazul plantei tropicale Pavetta indica din familia Rubiaceae, la care nodozităţile se formează pe frunze, fiind provocate de Bac. rubiaceum (fig.95). Aceste bacterii au fost izolate pe medii artificiale, cînd s-a putut constata că fixează pînă la 30 mg azot molecular pe litru de mediu în 20 de zile. Nodozităţi pe frunze se mai formează şi la unele plante tropicale din familia Dioscoreae

CICLUL BIOLOGIC AL AZOTULUI

Dintre elementele biogene, azotul are cel mai complex ciclu biologic, atît ca număr de transformări cît şi ca natură a proceselor de trans-

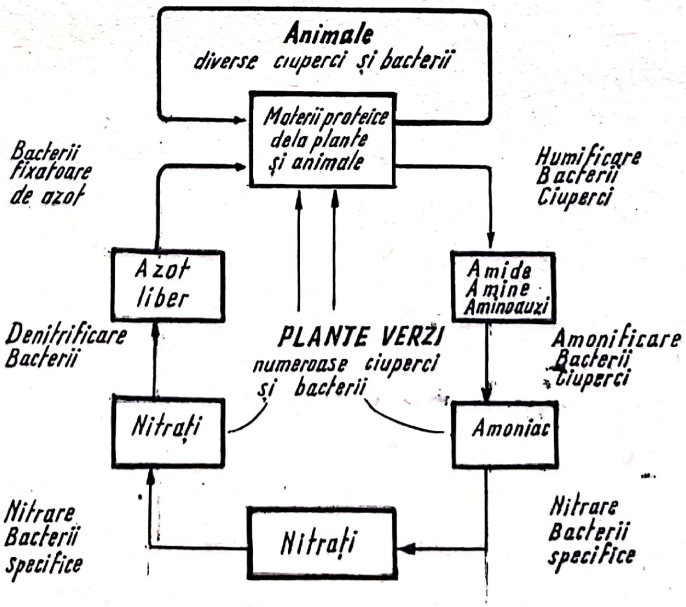


Fig.96.

formare. In afară de procesele de degradare a compuşilor complecşi cu azot, ciclul cuprinde şi procesele de oxidare şi reducere a compuşilor minerali ai azotului, precum şi procesul complex de fixare a azotului de către microorganisme, aşa cum reiese din figura 96.

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul XIII

COMPLEXUL ORGANIC AL SOLULUI (HUMUSUL)

Humusul este un complex de compuşi organici, în rîndul cărora predominanţi şi caracteristici sînt acizii humici şi combinaţiile acestora cu partea minerală a solului. Humusul îndeplineşte un rol foarte important în definirea fertilităţii solurilor. De prezenţa humusului depind dinamica substanţelor nutritive din sol, caracteristicile proceselor biochimice şi, în general, toate proprietăţile solului. Existenţa humusului în sol asigură o rezervă de elemente nutritive (N, P, S, K etc.) care, în urma procesului de descompunere, trec în forme accesibile pentru plante.

FORMAREA HUMUSULUI ÎN SOL

Primele cercetări referitoare la formarea humusului au început în a doua jumătate a secolului al XVII-lea. De atunci au fost emise diferite teorii chimice şi biochimice sau biologice. Primele teorii referitoare la formarea humusului au fost chimice. Reprezentanţii acestor teorii (S p r e n g e l , F i s c h e r , S c h r ö d e r , F u c h s , W a k s m a n ş.a.) considerau că humusul se formează printr-un proces chimic de descompunere a resturilor organice din sol. Chiar dacă se admitea şi participarea microorganismelor, rolul acestora era limitat numai la descompunerea resturilor organice. Bazele cercetării complexe, ştiinţifice, materialist-dialectice referitoare la formarea humusului au fost puse în cea de-a doua jumătate a secolului al XIX-lea. Descoperirile strălucite ale lui P a s t e u r şi D a r w i n au permis lui D o c u c e a e v şi K o s t î c e v să vadă esenţa biochimică a procesului de formare a humusu-

lui. Mai departe, această concepţie biochimică a fost dezvoltată de oamenii de ştiinţă din diferite ţări. In prezent, formarea humusului este considerată ca un proces biochimic, complex, în care cel mai important rol revine microorganismelor. Acestea acţionează asupra resturilor organice, folosindu-le ca sursă de hrană şi energie. Rezultă astfel o serie de substanţe minerale accesibile pe care le folosesc generaţiile următoare de plante şi microorganisme. De asemenea, pe parcurs iau naştere o serie de produşi de descompunere sau resintetizare ai microorganismelor, care tot cu participarea acestora trec în substanţe macromoleculare complexe, specifice, acizii humici.

Dintre substanţele de descompunere şi resintetizare rezultate în urma acţiunii microorganismelor asupra resturilor organice din sol şi care iau parte la formarea acizilor humici, mai importanţi sînt compuşii aromatici de tipul polifenolilor şi compuşii organici cu azot de tipul aminoacizilor. Acizii humici se formează din compuşii amintiţi tot cu participarea microorganismelor. Se crede că moleculele acizilor humici iau naştere prin procese de condensare şi polimerizare a compuşilor aromatici de tipul polifenolilor şi celor cu azot, de tipul aminoacizilor, în urma cărora rezultă substanţe heteropolicondensate, macromoleculare.

Acizii humici care alcătuiesc principala parte a humusului au fost împărţiţi în două grupe: acizi huminici şi acizi fulvici.

<u>Acizii huminici</u> sînt produşi heteropolicondensaţi, macromoleculari, complecşi. In compoziţia acizilor huminici, elementele de bază intră cam în următoarele procente: carbon 52-62%; oxigen 31-39%; hidrogen 2,5-5,8%; azot 2,6-5,1%. De asemenea, în compoziţia acizilor huminici intră şi cantităţi mici de sulf, fosfor şi microelemente. După S.S.D r a g u n o v (1948), formula empirică a două tipuri de acizi huminici este următoarea: acid huminic din cernoziom $C_{64}O_{26}H_{55}N_4$, acid huminic din turbă $C_{69}O_{33}H_{56}N_2$. Acizii huminici se prezintă în stare coloidală şi au în alcătuirea lor diferite grupări funcţionale. Ca urmare, ei participă la reacţiile de schimb. Intre hidrogenul grupărilor funcţionale, îndeosebi a celor carboxilice şi hidroxil fenolice şi diferiţi cationi din sol, au loc reacţii de schimb.

<u>Acizii fulvici</u> (crenici şi apocrenici) sînt solubili în alcalii dar insolubili în acizi. După G.J. M u l d e r, acizii fulvici conţin mai puţin carbon, dar mai mult oxigen faţă de acizii huminici. Compoziţia lor chimică elementară este aproximativ următoarea: carbon 44-50%; oxigen 42-48%; hidrogen 4,6-6%; azot 2-5,5%. Procentul de azot şi capacitatea de

adsorbţie a acizilor fulvici sînt apropiate de ale acizilor huminici. In anul 1947, W.G.C.F o r s y t h folosind metoda adsorbţiei selective a împărţit fracţia fulvică a humusului în patru părţi, precizînd prin aceasta studiile anterioare. Prima parte existentă în cantitate mică conţine substanţe solubile în apă, ca zaharuri şi aminoacizi, a doua parte c o n ţ i n e glucoizi fenolici şi taninuri. A treia parte este formată din poliuronide obţinute din acidul glucuronic, conţinînd D-glucoză, D-xiloză, L-ramnoză şi alte zaharuri şi se pare că are o compoziţie caracteristică, care nu depinde de tipul de sol din care a fost extrasă; probabil, această parte are o origine microbiană. A patra parte este bogată în azot, conţinînd şi pentoze, precum şi fosfaţi organici. Acizii fulvici au un grad de disociaţie mai mare şi îndeplinesc un rol foarte important în procesul de formare a solurilor podzolice, întrucît formează combinaţii complexe cu metale, ca fierul, aluminiul, calciul, modificînd mobilitatea lor în sol. Sub formă de săruri solubile ale metalelor alcaline şi alcalino-pămîntoase, substanţa organică a solului (crenaţii şi apocrenaţii) devine mobilă. Printr-o serie de proprietăţi, acizii fulvici sînt asemănători cu acizii huminici, avînd probabil şi o geneză întrucîtva asemănătoare.

COMPOZITIA ŞI PROPRIETAŢILE HUMUSULUI

Datorită diversităţii condiţiilor de mediu în care decurge humificarea, se formează humus cu compoziţie şi proprietăţi foarte diferite. De aceea rezultatele analizelor chimice de humus sînt la fel de variate ca şi metodele de cercetare. Substanţele izolate din humus, ca hidrocarburi, steroli, aldehide, zaharuri, proteine, combinaţii cu fosfor şi sulf nu sînt suficiente pentru caracterizarea de ansamblu a substanţei humice din sol. Abia în anul 1902, P.P.D e h e r a i n a caracterizat în ansamblu humusul ca un complex proteoligninic. Mai tîrziu, S.A. W a k s m a n consideră că din toate complexele humusului, cele mai importante sînt complexele ligninice care formează cam 40% din masa humusului şi complexele proteice care formează cam 30-35%. Restul este format din acizi organici, zaharuri, alcooli, grăsimi.

In concepţia modernă, se consideră că aceste complexe organice ale humusului reprezintă atît produşi de degradare microbiană a resturilor organice (complexele ligninice) cît şi produşi de resinteză microbiană (în special complexele proteice), la care se adaugă numeroase componente minerale existente în sol. In primul rînd, complexele ligninoproteice (ele însele coloidale) se grupează în jurul particulelor minerale cu care stabilesc legături fizico-chimice complexe. La suprafaţa acestor coloizi organominerali , decurge o intensă adsorbţie de schimb cu ionii minerali din soluţia solului. Rezultă componente unitare, legate organic, cu proprietăţi coloidale noi şi stabile. Pe de altă parte, în complexul ligninoproteic, componenţii humusului capătă proprietăţi cu totul noi, şi anume, lignina pierde din rezistenţă la atacul enzimatic, în timp ce proteina devine mai rezistentă. Astfel, viteza lor de descompunere devine apropiată. Aşa se realizează proprietatea humusului de a se descompune treptat eliberînd în soluţia solului în mod echilibrat atît elementele sale de constituţie (C, O, H, N, S, P) cît şi elementele minerale adsorbite (Mg, Ca, Al, Fe, microelemente).

Locul central în compoziţia şi structura humusului este nucleul proteoligninic, iar problema centrală este clarificarea legăturii între componentele sale. Asupra acestei legături s-au emis numeroase ipoteze care au fost rînd pe rînd considerate ca insuficiente. Un lucru rămîne stabilit, şi anume, că proteinele humice sînt mult mai rezistente la atacul microbian decît orice alte proteine de origine vegetală, animală şi microbiană. Asupra acestei rezistenţe s-a emis pe de o parte ipoteza acţiunii protectoare a legăturii chimice cu acizii humici, pe de altă parte, s-a presupus că această rezistenţă se datoreşte şi adsorbţiei proteinelor pe coloizii minerali ai solului.

Ca proprietăţi fizice şi fizico-chimice, humusul se caracterizează prin culoare întunecată, insolubilitate în apă, solubilitate în alcalii diluate, din care pot fi precipitaţi cu acizi. Acizii humici şi complexele lor sînt coloizi care absorb şi reţin apă şi adsorb cationii care rămîn în stare schimbabilă. Un indice foarte important şi foarte studiat al humusului este raportul C/N, deoarece mulţi cercetători îl consideră ca un indicator în clarificarea influenţei substanţei organice a solului asupra creşterii plantelor. Acest indice este foarte variabil, depinzînd de compoziţia resturilor iniţiale, de activitatea microbiană, de condiţiile climatice, de echilibrul între humificare şi mineralizare a humusului. Structura substanţei organice a solului se schimbă cu adîncimea

profilului, ceea ce se reflectă în micşorarea raportului C/N şi în scăderea conţinutului general în carbon. Substanţa organică a solului conţine şi fosfor, acesta provenind din resturile vegetale ajunse în sol. Cunoştinţele în această problemă sînt destul de reduse, deoarece nu se poate realiza extragerea totală a fosforului organic fără transformarea lui în fosfaţi anorganici, ceea ce duce la măsurarea cantitativă inexactă a fosforului organic. Există date din care reiese că raportul C/P în unele soluri din statul Iowa (S.U.A.), oscilează între 100 şi 200, iar raportul N/P, între 8 şi 16 (R.W. P e a r s o n şi R.W.S i m o n s o n). Natura substanţelor care conţin acest fosfor organic nu este cunoscută, dar se pare că fitina este principala substanţă organofosforică a solului. O altă grupă de substanţe organofosforice a solului o formează acizii nucleici şi nucleotidele. S-au găsit şi mici cantităţi de lecitină care este un fosfolipid. Se pare că combinaţiile organofosforice de bază sînt acizii nucleici care intră în interacţiune profundă cu substanţa humică, fiind bine protejaţi împotriva enzimelor care îi defosforilează foarte repede din lipsa acestei acţiuni protectoare a substanţei humice. Această ipoteză este confirmată şi de faptul că fosfaţii organici pot fi extraşi din substanţa humică a solului numai printr-o prelucrare destul de energică, deşi este cunoscut că în solurile acide fitina şi în special fitatul de fier sînt foarte rezistente la defosforilare. C.A. B o w e r (1945) a constatat că acizii nucleici şi nucleoproteinele se adsorb foarte puternic pe montmorilonite (silicaţi secundari cu Al, Fe, Mg şi Na) şi în această stare sînt şi mai rezistenţi la defosforilare.

Humusul mai conţine şi sulf în cantităţi şi forme puţin cunoscute. Raportul N/S variază între 1/2 (în solurile podzolice) şi 1/100 (în solurile preriilor). Cel puţin o parte din sulf se găseşte probabil sub formă de cistină şi cisteină, aminoacizi, care intră în compoziţia resturilor proteice.

Complexele organominerale ale solului. Humusul reacţionează cu partea minerală a solului dînd naştere la diferite complexe organominerale. După I.V.T i u r i n (1937-1949), combinaţiile humice din sol se pot clasifica în următoarele grupe:

1. acizi humici liberi sau slab legaţi, solubili în alcalii diluate, fără îndepărtarea prealabilă a calciului schimbabil;
2. humaţi de Ca, Na şi Mg;
3. humaţi de Al şi Fe şi geluri mixte de hidroxid de Fe şi Al;
4. acizi humici strîns legaţi de argilă (complexe argilo-humice);
5. combinaţii complexe organominerale (cu Al, Fe, P şi Si).

Dintre acestea, numai ultimele patru grupe trebuie considerate combinaţii organominerale ale substanţelor humice. Coloizii argilo-humici care se formează cu participarea calciului sînt consideraţi ca principalii purtători ai azotului şi fosforului din sol şi contribuie esenţial la fertilitatea solului şi la crearea structurii şi proprietăţilor fizico-chimice favorabile ale cernoziomurilor. In alte soluri, coloizii argilo-humici conţin probabil mai puţină substanţă humică în raport cu argila, mult mai puţin azot şi fosfor, iar calciul este înlocuit cu fierul, parţial cu magneziul, iar în lipsa fierului, cu aluminiul. Ei se întîlnesc în special în orizonturile mai profunde ale solului.

FACTORII CARE INFLUENŢEAZĂ FORMAREA HUMUSULUI. PROPRIETĂŢILE HUMUSULUI

Humificarea resturilor organice este influenţată de o serie de factori: compoziţia resturilor organice, activitatea microorganismelor, procentul de baze schimbabile, tipul de sol, pH-ul, climatul, aeraţia solului, prelucrările solului.

Compoziţia resturilor organice care servesc ca material de bază influenţează esenţial calităţile humusului format. De exemplu, plantele sărace în lignină, dar conţinînd cantităţi importante de calciu şi azot, duc la formarea unui humus slab acid, în care raportul C/N este mic şi care se mineralizează repede. Alte specii de plante care conţin multă lignină, dar sînt sărace în Ca şi N, duc la formarea de humus acid în care raportul C/N este mare. Diferitele substanţe de constituţie ale resturilor vegetale sînt descompuse de către microorganisme, cu viteze variate. Primele care se distrug sînt zaharurile solubile, alcoolii şi acizii organici. Aceşti compuşi pot fi descompuşi pînă la CO_2 şi H_2O, sau intră în metabolismul microbian şi sînt resintetizaţi în substanţe de constituţie ale celulelor bacteriene, sub formă de pentozane, hexozane, hemiceluloze, acizi poliuronici etc. Aceste substanţe complexe pot fi, de asemenea, mineralizate, dar pe de altă parte, mai tîrziu, prin resintetizare, pot intra în compoziţia humusului. Mai încet se descompun pectinele şi amidonul, iar cel mai greu se descompun substanţele cu nuclee aromatice. Celuloza, substanţă mult mai stabilă, are o importanţă în

humificarea aerobă, cînd produşii de degradare pot fi metabolizaţi de diferite microorganisme. In acest sens este bine cunoscută metabioza între Cytophaga şi fixatorii de azot molecular, cînd atît Azotobacter cît şi Clostridium utilizează intens alcooli şi acizi organici rezultaţi în urma metabolizării aerobe a celulozei de către Cytophaga. Această metabioză constituie o importantă verigă a procesului general de humificare. Cel mai încet se descompune lignina şi la humificarea acesteia participă în special ciuperci, basidiomicete şi actinomicete. Proteinele sînt în mare parte amonificate, dar cel puţin o treime din cele iniţiale se păstrează în compoziţia substanţei humice sub formă de complexe stabile cu acizii humici. Ca urmare a vitezei diferite a proceselor descrise, în humus se regăsesc componentele resturilor vegetale, dar în proporţii diferite, aşa cum reiese din tabelul 4.

Tabelul 4

Transformările componentelor resturilor vegetale în procesul de humificare (după S.A.Waksman şi L.M.Thompson).

Componentele	In % din greutatea uscată a restului vegetal	In humus %
Celuloză	20 - 50	2 - 10
Hemiceluloze	10 - 28	2 - 20
Lignine	10 - 30	35 - 55
Proteine	1 - 15	15 - 45
Grăsimi, taninuri, ceride	1 - 8	1 - 8

Din acest tabel se conturează două particularităţi de bază ale procesului de humificare: micşorarea procentului de celuloze şi hemiceluloze şi mărirea procentului de lignine şi substanţe proteice.

Activitatea microorganismelor este un factor foarte important al humificării, deoarece poate imprima humusului anumite proprietăţi. Astfel, în solurile cu o intensă activitate microbiană, hidraţii de carbon complecşi şi ligninele se transformă în combinaţii chinonice care, cu aminoacizii şi substanţele peoteice provenite din resturile vegetale sau din fixarea azotului atmosferic formează acizi humici. In solurile cu activitatea microbiană redusă, ligninele sînt slab descompuse şi cu substanţele proteice şi heterociclice duc la formarea de complexe humice şi prohumice.

In măsura în care activitatea microorganismelor este influenţată de condiţiile mediului extern, însăşi humificarea depinde de aceste condiţii.

Conţinutul de baze schimbabile, tipul de sol şi pH-ul influenţează simţitor procesul de formare şi caracteristicile humusului. Astfel, în condiţiile unei saturări a solului cu baze şi în special cu calciu, se formează îndeosebi acizi huminici cu mult azot aminic şi chinone. Raportul C/N este mic (8-10). Aceşti acizi huminici precipită sub influenţa calciului, condiţionînd o bună structurare a solului. In solurile acide se formează îndeosebi acizi fulvici cu un raport C/N mai mare, mai bogaţi în lignine şi care imprimă solului o structură mai puţin stabilă, deoarece sînt mai solubili. In solurile foarte acide lignina este puţin transformată, formîndu-se complexe humice sărace în azot (raportul C/N aproape 20). Aceste complexe humice fiind uşor dispersabile nu conferă solului o bună structură. Această situaţie este caracteristică solurilor podzolice.

Din aceste fapte reiese, pe de o parte, influenţa proprietăţilor solului asupra procesului de humificare, precum şi influenţa calităţii humusului asupra însuşirilor culturale ale solului.

Climatul influenţează atît activitatea microorganismelor cît şi specificul vegetaţiei şi prin aceasta, compoziţia chimică a resturilor organice supuse humificării. Cea mai favorabilă temperatură pentru humificare este 30 - 35°C. De asemenea este necesară o acţiune a razelor solare asupra solului, în lipsa cărora se formează un humus în general brut.

Aeraţia solului condiţionează în special oxidarea ligninelor de care depinde în mare măsură calitatea humusului. In condiţii anaerobe, ligninele rămîn aproape netransformate, iar produşii de descompunere anaerobă a celulozelor şi hemicelulozelor (solubile şi gazoase) se pierd, aşa cum se întîmplă în cazul turbăriilor.

Prelucrările solului. Pentru menţinerea rezervelor de humus în sol, este strict necesară introducerea periodică de substanţe organice sub formă de gunoi de grajd sau îngrăşămînt verde.

ROLUL HUMUSULUI ÎN SOL

Cel mai caracteristic proces al pedogenezei este humificarea. Fără humus, roca dezagregată şi alterată nu poate fi considerată sol. Aceasta deoarece prezenţa humusului imprimă solului trei categorii de proprietăţi

caracteristice (chimice, fizice şi biologice) care condiţionează proprietatea esenţială a solului, fertilitatea. Ca proprietăţi fizice condiţionate de humus, trebuie considerată în primul rînd culoarea închisă de care depinde absorbţia razelor solare şi încălzirea suplimentară a solului. Aşa cum s-a arătat, acizii humici participă la agregarea coloizilor minerali. Astfel, R.J. S w a b y a demonstrat că această capacitate este mai puternic manifestată la acizii huminici decît la cei fulvici. Această proprietate se datoreşte fracţiei organice polimere (aminopoliuronide, poliuronide, proteine, lignine), care sub acţiunea cationilor precipită, agregînd particulele minerale, iar agregarea are consecinţe favorabile în regimul hidric şi aerian al solului. In solul structurat, apa de infiltraţie pătrunde mai uşor, păstrîndu-se în stratele profunde. Aerul pătrunde printre agregate, condiţionînd mineralizarea treptată a substanţelor organice la suprafaţa agregatului. Coloizii humici au şi o mare capacitate de a se îmbina cu apa, reţinînd sub această formă cantităţi de cîteva ori mai mari decît propria lor greutate. Agregatele structurale cimentate de humus sînt rezistente la eroziune. Humusul imprimă solului proprietăţi tampon, iar prin capacitatea de adsorbţie a ionilor minerali, se opune levigării substanţelor nutritive minerale. Astfel, humusul contribuie la fixarea şi mobilizarea unor importanţi ioni minerali, ca N, P, Fe, Ca etc., furnizînd plantelor superioare, pe de o parte, substanţe organice micromoleculare direct asimilabile, iar pe de altă parte substanţe minerale rezultate prin mineralizare de către microorganisme. Printr-un mecanism fiziologic încă necunoscut, acizii humici influenţează unele procese fiziologice care se pot solda cu sporuri de recoltă. Astfel, în prezenţa acizilor humici este stimulată activitatea unor enzime, ca aldolaza, fosfataza, sporeşte permeabilitatea celulară şi viteză de deplasmoliză. Sub influenţa acizilor humici este stimulată eliberarea de substanţe auxinice de către microfloră (constatată în procesul de fermentare naturală a gunoiului de grajd). Prin toate aceste proprietăţi şi efecte, humusul contribuie la crearea fertilităţii solurilor.

MINERALIZAREA HUMUSULUI

Prin mineralizarea humusului se pun la dispoziţia plantelor importante cantităţi de elemente minerale în forme accesibile. Procesul este executat de microorganisme specificare care constituie după S. Vinogradski

"flora autohtonă humivoră" care se pare că este cu mult mai specifică decît flora care degradează resturile organice. In afară de bacteriile specifice, la mineralizarea humusului participă şi unele ciuperci şi actinomicete, ca Actinomyces griseus. Viteza de mineralizare a humusului mai depinde de tipul de humus (humusul acid şi complexele humolig - ninice se descompun mai greu). Temperatura grăbeşte mineralizarea humusului, ceea ce face ca în regiunile tropicale practic să nu se acumu - leze humus în sol. Un pH neutru grăbeşte mineralizarea humusului. Razele solare au o influenţă asemănătoare, dar indirect, prin încălzirea solului. Mineralizarea humusului mai este accelerată de introducerea exclusivă a îngrăşămintelor minerale, deoarece acestea stimulează dezvoltarea microflorei.

In solurile cultivate, echilibrul dinamic între formarea şi mine - ralizarea humusului poate şi trebuie să fie dirijat printr-un aport corespunzător de îngrăşăminte organice, ca o condiţie pentru menţinerea şi sporirea fertilităţii solului.

Capitolul XIV

INTERRELATII ÎNTRE PLANTE SUPERIOARE ŞI MICROORGANISME

MICORIZA

Prin micoriză se înţelege asociaţia dintre o ciupercă filamentoasă şi rădăcina unei plante fanerogame sau criptogame, cu clorofilă. Multe ciuperci din sol, din grupe sistematice diferite, pot intra în interre - laţii strînse cu plantele superioare, dezvoltîndu-se pe suprafaţa rădă - cinilor lor, formînd un înveliş caracteristic alcătuit din hife ale ciu- percilor. Numărul şi varietatea plantelor adaptate la această asociaţie sînt foarte mari. O listă privind această asociaţie a fost dată de L. L u t z (1948). Din această listă se vor cita numai principalele grupe sistematice care conţin specii de plante ce intră în asociaţii cu ciuper- cile constituind micorize.

Dintre Cryptogame: protaluri de Muscinee, Hepatice, Lycopodiaceae.

Dintre Fanerogame: a. Gymnosperme: rădăcinile numeroaselor Conife- rales (Taxaceae, Cupressaceae, Abietaceae).

b. Angiosperme: Monocotiledonate: Rizomi de Araceae, rădăcini de Graminee, Liliaceae şi Orchideae. Dicotiledonate: rădăcini de Salicaceae, Betullaceae, Fagaceae, Rosaceae, Ericaceae, Gentianaceae etc.

Dintre toate vegetalele care formează asociaţii micoriziene, Orchi- deae-le constituie cazul cel mai cunoscut. In privinţa aceasta, sînt con- siderate clasice lucrările lui N. B e r n a r d, iar dintre lucrările mo- derne de cea mai mare valoare sînt apreciate lucrările lui L. L u t z, D. B a c h, şi B. B o u l l a r d. In urma acestor lucrări şi a celor e- fectuate în U.R.S.S. (B a r a n e i a, L o b a n o v etc.), a devenit

clar faptul că micorizele sînt într-adevăr foarte răspîndite la diferitele grupe de plante superioare din cele mai diferite zone climatice, începînd cu nordul îndepărtat şi terminînd cu regiunile sudice şi calde.

După felul convieţuirii ciupercilor cu rădăcinile plantelor, micorizele se clasifică în cîteva tipuri. Această clasificare stabilită încă în anul 1885 de către A.B. F r a n k subdivide micorizele în ectotrofe şi endotrofe. După cum le indică şi numele, micorizele ectotrofe sînt asociaţii, în care miceliile simbionte se dezvoltă numai pe suprafaţa rădăcinilor tinere şi nu pătrund în celulele ţesuturilor rădăcinii. Dacă ciuperca pătrunde în celulele parenchimului cortical al rădăcinii, atunci micoriza se numeşte endotrofă. In afară de aceste două tipuri principale de micoriză, există forme de tranziţie care corespund modului ectotrof, dar unde hifele pătrund din loc în loc şi în celulele corticale. Acest

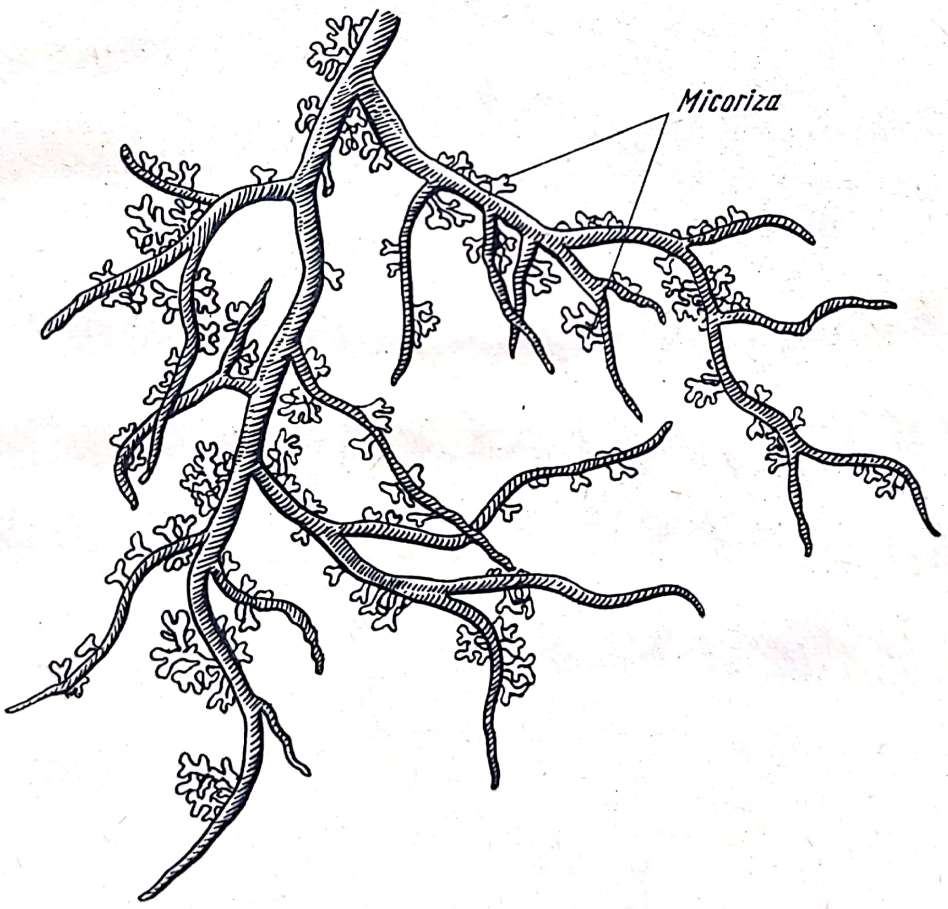


Fig.97. Rădăcini de Pinus silvestris cu micoriză ectotrofă. (După J. Pochon şi H. de Barjac.)

tip de micoriză poartă numele de ectoendotrof. In sfîrşit, al patrulea tip de micorize a fost stabilit de E. J a h n (1934), numit micoriză

peritrofă, constituită din ciuperci care se dezvoltă în vecinătatea imediată a rădăcinilor vegetale, fără a avea un contact strîns cu ele. In realitate, acest fel de asociaţii nu ar trebui considerate ca micorize propriu-zise, deoarece se apropie mai mult de cazul general al rizosferei.

In cazul micorizelor ectotrofe, rădăcinile plantelor sînt înconjurate de un înveliş gros de ciupercă, de la care pleacă în diferite direcţii hifele ciupercii. Din manşonul extern de miceliu, hifele ciupercii pot pătrunde şi în interiorul rădăcinii, însă la o mică adîncime, numai în scoarţă, printre celule, fără a atinge cilindrul central. In cursul dezvoltării ciupercii, ea se întinde în special acoperind rădăcinile laterale, şi numai terminaţiile rădăcinilor principale rămîn de obicei imune faţă de ciupercă. Deoarece prin dezvoltarea ciupercii pe rădăcini ,

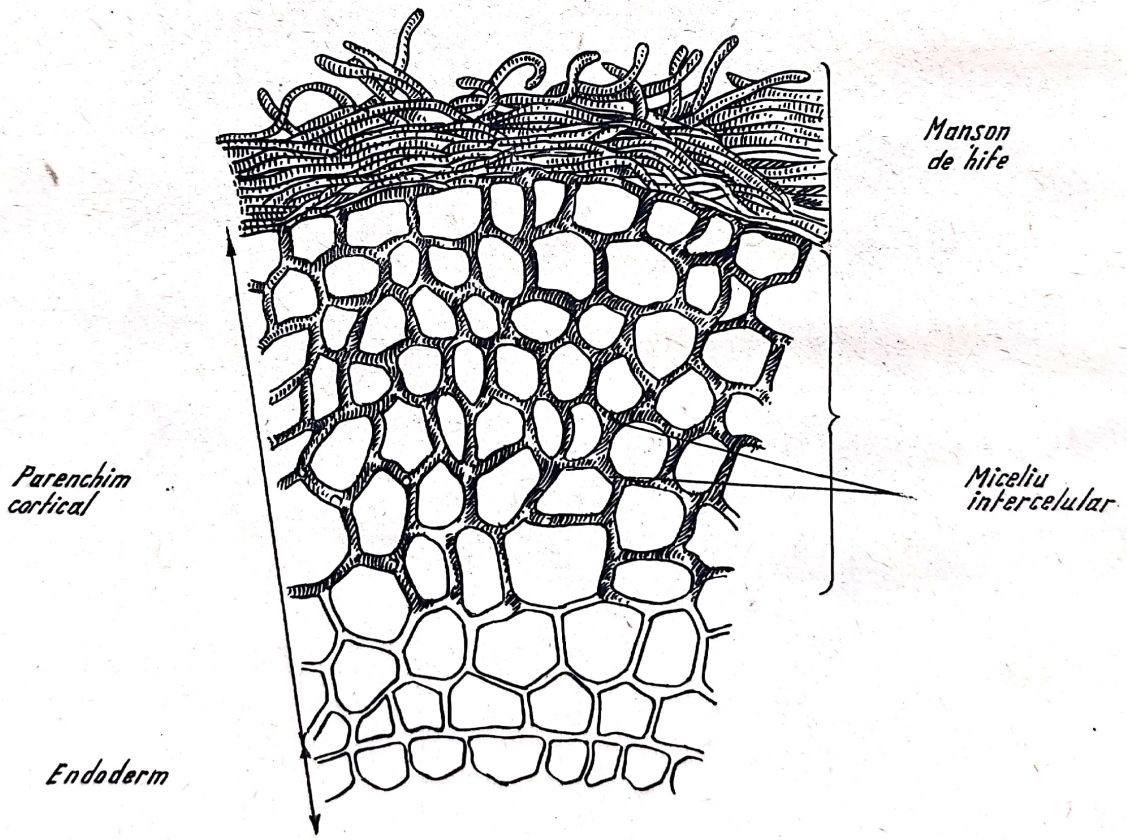


Fig. 98. Schema micorizei ectotrofe în secţiune transversală a rădăcinii. (După J.Pochon şi H. de Barjac.)

perii radiculari dispar, absorbţia de apă se face probabil prin intermediul hifelor de ciupercă. Acest tip de micoriză se întîlneşte la numeroase

specii de arbori de pădure (stejar, fag, carpen etc.), precum şi la conifere (molid, pin). In cazul micorizelor ectoendotrofe, miceliul ciupercii poate pătrunde în rădăcinile laterale, formînd ghemuri intrecelulare (micorize ectoendotrofe la Taxus sp. şi Juniperus sp.). Aspectul extern al micorizei extotrofe la Pinus sylvestris este prezentat în figura 97, iar structura unei micorize ectotrofe este reprezentată în figura 98.

Rădăcinile invadate, din punct de vedere anatomic, nu suferă nici o modificare, decît o scurtare în lungime, precum şi o lărgire a celulelor corticale. Teaca micelianâ a micorizelor este adesea colorată în alb sau negru trecînd prin brun, iar suprafaţa poate fi pîsloasă sau netedă. Viaţa acestor micorize este efemeră. Infecţia se produce cînd rădăcinile laterale dau numeroase ramificaţii, iar micorizele mor, în general, la sfîrşitul perioadei vegetative.

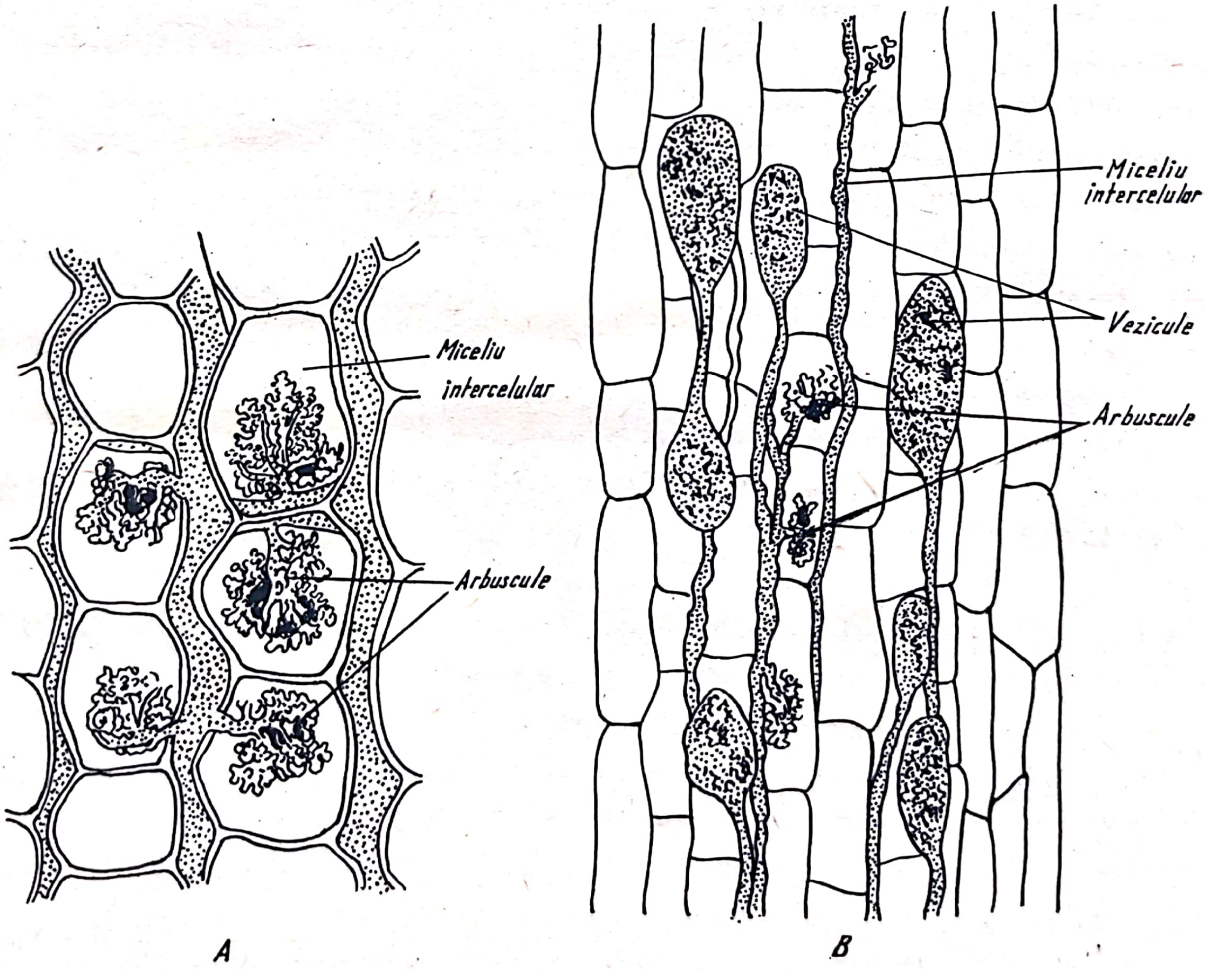


Fig.99. Micoriză endotrofă:
A- structura detaliată a arbusculelor; B- structură veziculo-arbusculară.
(După J.Pochon şi H. de Barjac.)

Micorizele endotrofe sînt mai frecvente decît cele ectotrofe şi cu excepţia orchideelor, mai puţin studiate. Miceliul ciupercii la acest tip pătrunde în celulele parenchimului scoarţei rădăcinii şi în acest caz celulele rămîn vii şi pot chiar digera miceliul de ciupercă pătruns în ele (fig.99). Adeseori, ciuperca nu pătrunde în stratele mai adînci ale rădăcinii, astfel încît cilindrul central rămîne neinfectat. In unele cazuri, micorizele endotrofe se dezvoltă şi în spaţiile intercelulare. In acest caz, spre deosebire de micorizele ectotrofe, perii radiculari se păstrează totdeauna şi pot exercita funcţiunile lor fiziologice. Prezenţa acestui tip de micoriză nu poate fi decelată decît prin examen microscopic la secţiuni radiculare. In unele cazuri însă, ciupercile endotrofe produc pe rădăcinile invadate un fel de umflături sau tuberculi: "protocormul" la Orchidee, şi "tuberculi" la cartof. Invazia internă a ciupercii se manifestă, în general, prin formarea de structuri caracteristice în celulele corticale ale rădăcinilor: "mameloane", sau de formă arborescentă "arbuscule". Terminaţiile umflăturilor lor au aproape totdeauna formă de "vezicule", considerate de B u t l e r ca nişte îngrămădiri de grăsimi. Acestor tipuri de micoriză li se mai atribuie denumirea de "vezi-culo-arbusculare". Infecţia rădăcinilor are loc primăvara, la începutul creşterii vegetative, şi foarte rar toamna, la plantulele speciilor de toamnă (grîu, secară). Miceliul infectant pătrunde printre celule formînd ramificaţii spre interiorul acestora, sau se infiltrează direct în celulele parenchimului cortical.

Ramificaţiile arborescente situate adesea în profunzimea parenchimului cortical suferă curînd o digestie progresivă începînd cu extremitatea lor şi dînd loc la formarea de mici mase neregulate, numite de J a n s e "sporangiole". Digestia miceliului ciupercii în rădăcinile de grîu, orz, secară şi ovăz a fost studiată de J. S t r z e m s k a (1955) şi se manifestă de la primele stadii de dezvoltare a plantelor-gazde şi continuă în toată perioada de creştere pînă la maturitatea completă.

Micorizele se formează pe rădăcinile plantelor corespunzătoare numai atunci cînd în compoziţia microflorei solului există ciupercile respective. In unele cazuri, cînd în soluri lipsesc ciupercile corespunzătoare, plantele micotrofe nu formează micorize.

In solurile lipsite de păduri nu se găsesc asemenea ciuperci, iar formarea micorizelor are loc numai în cazul inoculării cu specii corespunzătoare de ciuperci. In afară de prezenţa ciupercilor în sol, formarea de micorize mai depinde şi de reacţia solului, precum şi de cantitatea de

substanţe organice din sol. O dezvoltare intensă a micorizei are loc în stratul solului care este în direct contact cu litiera semiputredă, cu o reacţie apropiată de pH = 4,0 - 5,0. O influenţă favorabilă asupra formării micorizelor o are şi îngrăşarea solului cu compost, turbă şi gunoi de grajd, precum şi o aerare bună.

Ciupercile producătoare de micoriză

Sistematica ciupercilor producătoare de micoriză încă nu este clarificată. Aceasta se datoreşte faptului că multe din ele nu au aparat sporifer şi de aceea nu se pot identifica în mod precis. In prezent, după rezultatele multor autori, dintre care citäm pe T.T.C.B i r c h (1937), M.E. Y o u n g (1937), W.D. T h o m a s (1941), O.M o d e s s, M.C. R a y n e r şi I. L e v i s o h n (1941), E.H a c s k a y l o (1951) şi E. M e l i n (1953), micorizele coniferelor şi ale foioaselor sînt provocate în majoritate de Basidiomycetes, uneori de Gasteromycetales (ciuperci globuloase), dar mai cu seamă, de Hymenomycetales (ciuperci cu pălărie). Micorizele sînt produse mai ales de ciuperci din genurile Amanita, Boletus, Cortinarius, Lactarius, Russula, Tricholma, Entoloma, Clitopilus şi Rhizopogon.

Poziţia taxonomică a ciupercilor producătoare de micorize endotrofe este, în general, necunoscută, în afară de cazul Orchideelor care este bine studiat, fiind stabilit că aparţin genului Rhizoctonia.

Alte micorize endotrofe aparţin genului Rhizophagus, descris de D a n g e a r d (1900) pe rădăcini de plop şi regăsit de J. T. B a r r e t (1947) în asociaţii micoriziene cu diverse plante. Numeroase şi variate plante ierboase, formează, de asemenea, micorize provocate de genuri de ciuperci insuficient studiate. Mai bine cunoscut este genul Phoma, care, după părerea lui M.C. R a y n e r, provoacă micorize la Ericaceae.

Interrelaţiile dintre micorize şi plantele micotrofe

S-a arătat că miceliile de micoriză se înfăşoară foarte strîns în jurul rădăcinilor arborilor, încît acestea pierd contactul direct cu solul. Perii radiculari fiind aproape complet reduşi, absorbţia de apă şi de

săruri minerale de către plantă se face cu ajutorul micorizei. Aceasta, avînd o suprafaţă de contact cu solul mult mai mare decît însăşi rădăcinile, poate asigura plantei o cantitate suficientă de apă. Oferind o mai mare suprafaţă de contact a plantei cu solul prin sistemul micorizian, absorbţia elementelor minerale din sol de către rădăcinile micotrofe este mărită. Astfel, cercetătorii J.D. R o u t i e n şi H.F. D a w s o n (1943) au demonstrat că rădăcinile cu micorize produc o cantitate de CO_2 (rezultat din respiraţie) de 2 - 4 ori mai mare decît rădăcinile neinfectate. Aceşti autori susţin că puterea de absorbţie a sărurilor nutritive de către rădăcinile micotrofe se datoreşte mai cu seamă cantităţii crescute de ioni de hidrogen schimbabili eliberaţi din acidul carbonic din respiraţie. Efectul favorabil al micorizelor faţă de nutriţia minerală a plantei-gazdă se exercită în special în condiţii ecologice limitate cînd elementele nutritive se găsesc în stare de săruri insolubile. Astfel pot fi utilizate surse nutritive greu solubile, ca fosfor din apatită, potasiu din feldspaţi, glauconiţi, sieniţi, elementele din calcarurile dolomitice şi turbele cu Sphagnum sau Carex.

In ceea ce priveşte azotul, rădăcinile neinfectate ale arborilor de exemplu sînt incapabile de a extrage suficient azotul din solurile studiate, bogate în materii organice dar sărace în azot amoniacal sau nitric. In acest caz, caracteristic solurilor cu humus acid, nutriţia azotată a arborilor poate fi asigurată prin intermediul micorizelor. Din contra, în solurile cu humus neutru, în general bine aprovizionate cu azot nitric şi cu o microfloră abundentă, aprovizionarea cu azot a arborilor nu necesită asociaţia micoriziană. Asemenea asociaţii apar numai în cazul prezenţei în sol cu precădere a fosfaţilor insolubili şi inaccesibili.

Asociaţia micoriziană mai are avantajul pentru planta-gazdă de a condiţiona şi folosirea substanţelor azotate organice. După cercetările lui E. M e l i n, hifele micorizelor ecto-endotrofe de Pinus radiata, în condiţii naturale şi experimentale, sînt capabile de a extrage din sol toate elementele nutritive necesare, inclusiv azotul organic.

Aceste elemente sînt metabolizate în hife şi transferate în ţesutul cortical al plantei-gazdă.

Ajutînd planta în privinţa aportului de apă, săruri minerale şi hrană azotoasă, ciupercile de micoriză obţin de la plante unele substanţe nutritive. Se presupune că ele asimilează de la plante glucide şi probabil

vitamine sau auxine. Astfel, ciupercile pot obţine mijloace suplimentare de creştere, fără de care unele din ele nu s-ar putea dezvolta.

Problema micorizei prezintă şi o importantă latură practică. Pădurile plantate în solurile castanii, în cernoziomuri, care de regulă nu conţin ciuperci specifice de micoriză, se dezvoltă slab. Asemenea deficienţe pot fi remediate inoculînd în gropile de plantare sol din pădurea corespunzătoare, sau rădăcini de arbori, sfărîmate, care conţin formele de ciuperci corespunzătoare. Se mai poate recurge la inocularea puieţilor sau seminţelor de ciuperci de micoriză separate în cultură pură de laborator.

NUTRIŢIA BACTERIOTROFĂ A LEGUMINOASELOR

Acest mod de nutriţie se realizează printr-o simbioză complexă între planta leguminoasă şi microorganisme specifice fixatoare de azot molecular. Cea mai importantă latură a acestei simbioze este desigur fixarea şi transferul azotului combinat, dar pentru realizarea acesteia intervin numeroase mecanisme fiziologice ale plantelor cît şi ale bacteriilor simbionte. In microflora solurilor în care s-au cultivat plante leguminoase, există bacterii de nodozităţi din genul Rhizobium provenite în urma distrugerii nodozităţilor, mai cu seamă după moartea plantelor-gazdă. Astfel ajunse în microflora solului, bacteriile de nodozităţi sînt eliminate treptat de către antagoniştii lor, dintre care cei mai importanţi sînt actinomicetele. In funcţie de condiţiile de sol şi de rezistenţa raselor de Rhizobium, termenul de eliminare a bacteriilor de nodozităţi din microflora solului variază între 3 şi 15 ani. In cursul acestei perioade, an de an scade capacitatea bacteriilor de a intra în simbioză cu leguminoasele ca şi capacitatea lor de a fixa azot molecular. Aceste procese sînt deosebit de accentuate pe solurile acide şi sărace în substanţe organice, ca şi pe solurile cu umiditate scăzută. Bacteriile astfel inactivate, deşi infectează planta, formează nodozităţi cu întîrziere, de o slabă eficacitate, iar cultura de leguminoase se dezvoltă slab şi nu realizează scopul agricol de îmbogăţire a solului cu azot. De aceea în soluri pe care nu s-au cultivat leguminoase de mult timp este binevenită bacterizarea seminţelor cu preparate microbiene de tip nitragin, înainte de însămînţare. Aceste

preparate introduc în sol bacterii active, care infectează intens rădăcinile şi astfel se obţine o simţitoare îmbogăţire a solului cu azot combinat. Bacteriile de nodozităţi, venind în contact direct cu membrana perilor absorbanţi, o înmoaie probabil sub acţiunea unor enzime. Ca urmare, vîrful părului absorbant se îndoaie. Astfel începe primul stadiu al morfogenezei nodozităţii, cînd bacteriile pătrund în celula părului radicular, apoi formează un cordon de infecţie zoogleic, care pătrunde din celulă în celulă cel mult pînă la endoderm (fig. 100). Aici infecţia se opreşte deoarece bacteriile nu mai pot ataca membrele îngroşate secundar. Cordonul se prezintă ca o masă mucilaginoasă în care sînt incluşi bacilii de Rhizobium. Pe măsura pătrunderii, cordonul se acoperă cu o teacă celulozică de aceeaşi natură cu peretele celulei vegetale. Acest fapt este interpretat ca o reacţie de apărare a citoplasmei plantei-gazdă (R. S c h a e d e, 1940 şi E. Mc. C o y, 1942). In cursul migrării prin celule, cordoanele de infecţie manifestă o afinitate deosebită pentru nucleii celulelor-gazde pe care îi înconjură din toate părţile fără ca nucleii să prezinte reacţii evidente (J. O. H a r r i s, E. K. A l l e n şi O. N. A l l e n, 1949). Al doilea stadiu al morfogenezei nodozităţii începe în stratele mai profunde ale cortexului radicular, cînd indivizii de Rhizobium sînt eliberaţi din cordon şi se plasează la periferia celulelor vegetale în citoplasma care mărgineşte vacuolele. Paralel cu multiplicarea acestor indivizi de Rhizobium, este stimulată diviziunea

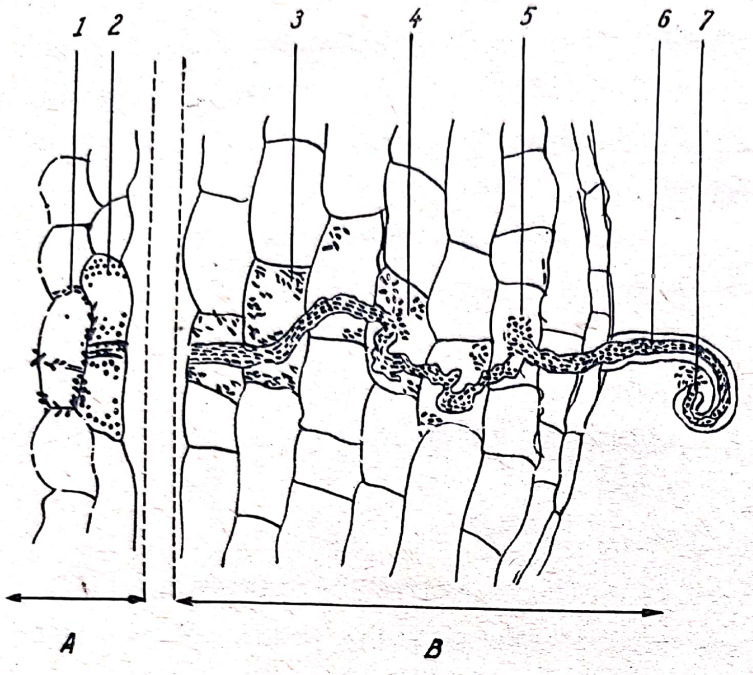


Fig. 100. Desfăşurarea infecţiei cu Rhizobium în rădăcina de leguminoase:
A- degenerarea nodozităţilor; 1- invazia pereţilor celulari de către bacteriile cordonului; 2- liza bacteroizilor; B- cordonul de infecţie; 3- apariţia bacteroizilor; 4- eliberarea şi multiplicarea bacteriilor; 5- eliberarea bacteriilor din cordon; 6- cordon; 7- punct de infecţie. (După J. Pochon şi H. de Barjac.)

celulară în cortexul radicular al plantei-gazdă, cînd creşte numărul de celule infectate. In acest stadiu începe formarea nodozităţilor şi este însoţită de apariţia de anomalii nucleare, hipertrofii (E.Mc.Coy, 1929 , H.G.Thornton, 193o), tetraploidie (L. W i p f şi D.C. C o p p e r, 1938). In sfîrşit, al treilea stadiu constă în maturizarea nodozităţii şi se caracterizează prin diferenţierea ţesuturilor, care urmează proliferării masive din al doilea stadiu. Aceasta nu înseamnă oprirea creşterii nodozităţii, deoarece activitatea meristematică continuă.

Structura nodozităţii mature

Aceasta reiese din figura 1o1 şi cuprinde următoarele formaţii de bază:

Cortexul nodozităţii este pluristratificat, neinfectat, provenind din meristemul nodozităţii. Este format din celule parenchimatice deosebite de celulele cortexului radicular; în general sînt lipsite de incluziuni la speciile anuale, iar la speciile lemnoase, perene pot fi adesea suberificate îndeplinind un rol protector (E.R. S p r a t t, 1919).

Zona meristematică, situată imediat sub cortex, este formată din celule compacte, neinfectate, din care se diferenţiază celule corticale, vasculare, sau celule care vor fi infectate de bacterii. Poziţia zonei meristematice determină forma nodozităţilor. Astfel meristemul, emisferic duce la formarea de nodozităţi sferice (mazăre, fasole, bob), meristemul apical duce la formarea de nodozităţi cilindrice (lucernă, trifoi), uneori ramificate sau lobate, datorită activităţii meristematice intermitente ca la speciile vegetale plurienale (Caragana sp.), meristemul lateral divizat generează nodozităţi de tipul lupinului.

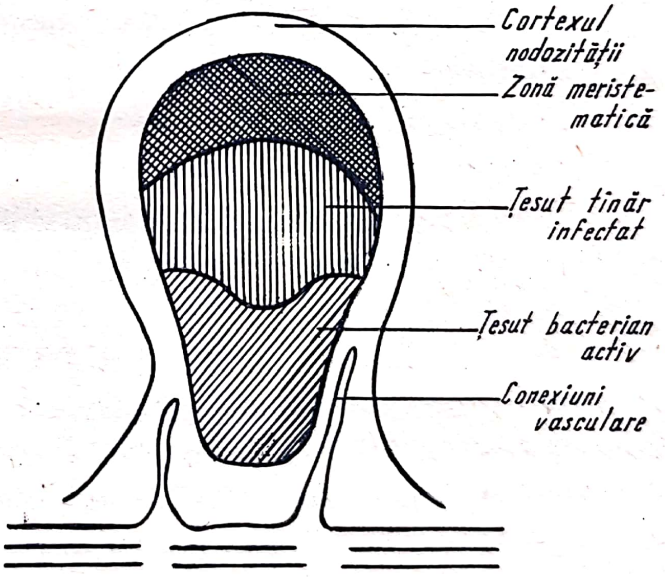


Fig.1o1. Schema unei nodozităţi mature - secţiune longitudinală. (După J. Pochon şi H. de Barjac.)

Sistemul vascular se diferenţiază de timpuriu în masa nodozităţii născînde, din celulele situate între cortex şi zona infectată. Astfel se formează cordoane provasculare care se racordează ulterior la stelul rădăcinii, iar la maturitate cuprind traheide de xilem, fibre de floem, tuburi ciuruite şi celule satelit incluse într-o teacă parenchimatoasă înconjurată de endoderm. Cu timpul suberificarea celulelor vasculare restrînge schimbul nutritiv între planta-gazdă şi ţesutul nodozităţii. Conexiunile vasculare sînt separate de ţesutul infectat printr-un strat de celule parenchimatice neinfectate.

Ţesutul bacterian activ este ţesutul esenţial al nodozităţii, constituit în special din celule parenchimatice infectate care fixează azot molecular, dar care conţine şi un număr oarecare de celule neinfectate. In general, celulele infectate sînt hipertrofiate, avînd dimensiuni de 4-8 ori mai mari decît celulele neinfectate. Ţesutul bacterian activ este recunoscut ca sediu al fixării azotului molecular. Volumul, compoziţia şi durata de funcţionare a acestui ţesut depind de eficienţa fixării azotului. La nivelul fasciculelor liberiene care înconjură ţesutul bacterian se desfăşoară schimbul de substanţe între planta superioară şi bacterii, în cadrul căruia bacteriile primesc substanţe nutritive hidrocarbonate, iar planta primeşte de la bacterii azot combinat.

Caracterul interrelaţiilor dintre plantele superioare şi bacteriile de nodozităţi

Intrucît infecţia cu aceste bacterii este favorizată de foamea de azot a plantei superioare, s-a emis părerea că bacteriile de nodozităţi ar parazita plantele superioare. Pe de altă parte, faptul că aceste bacterii pot fi lizate în interiorul nodozităţii sub acţiunea plantelor superioare a condus la ideea contrară că planta superioară este parazitul bacteriilor. Cu toate aceste fapte reale, interrelaţiile dintre bacteriile de nodozităţi şi plantele leguminoase se supun unei condiţionări cu mult mai complexe, în care mediul extern, şi mai cu seamă rezerva nutritivă minerală a solului, are o importanţă hotărîtoare. Dintre factorii nutriţiei minerale, cea mai mare importanţă o prezintă borul. Borul determină în primul rînd formarea fasciculelor liberiene şi pe această cale se asigură afluxul de glucoză de la planta-gazdă spre bacterii, ceea ce activează însăşi procesul de fixare a azotului molecular ca şi afluxul de substanţe

azotate spre sistemul circulator al plantei. Lipsa borului inhibă dezvoltarea vaselor liberiene şi prin aceasta limitează aprovizionarea cu hidrocarbonate a bacteriilor care în acest caz nu pot sintetiza compuşi azotaţi, iar existenţa bacteriilor în plantă se manifestă ca parazitară.

Prezenţa azotului combinat în sol exercită o influenţă foarte variabilă asupra dezvoltării infecţiei şi asupra procesului de fixare. Este, în general, cunoscută influenţa inhibitoare a compuşilor azotaţi din sol asupra desfăşurării infecţiei bacteriene. Se admite că plantele-gazde bine aprovizionate cu azot devin nereceptive la infecţie. Alţi autori presupun că în cazul abundenţei în sol a azotului mineral, hidraţii de carbon sînt utilizaţi de către plantă în sinteza proteică, iar bacteriile de nodozităţi sînt lipsite de aceştia. In realitate s-a constatat că la plantele umbrite, deci parţial lipsite de hidraţi de carbon proveniţi din fotosinteză, infecţia şi fixarea azotului molecular pot fi chiar mai intense decît la plantele iluminate (M.V.Fedorov şi Podiapolskaia 1954). Se consideră că prezenţa compuşilor azotaţi în celula radiculară vie opreşte vizibil procesul de infecţie. Astfel, Korsakova şi Konokotina au demonstrat că formarea nodozităţilor pe rădăcinile leguminoaselor este inhibată de doze de azot amoniacal mici, care in vitro nu influenţează dezvoltarea bacteriilor de nodozităţi. Din aceasta reiese că azotul nu acţionează asupra bacteriilor în sol, ci numai după pătrunderea lui în ţesuturile plantelor-gazdă.

O importanţă hotărîtoare o are şi prezenţa potasiului, iar lipsa fosforului inhibă complet dezvoltarea nodozităţilor chiar din primele stadii de dezvoltare a plantei. Lipsa acestuia împiedică atît pătrunderea bacteriilor în ţesuturile radiculare cît şi formarea ţesutului bacterian al nodozităţii.

Asemenea fapte pledează în favoarea tratării interrelaţiilor între bacteriile de nodozităţi şi plantele superioare ca relaţii de simbioză, însă complex condiţionate de factorii mediului extern şi de starea fiziologică a plantei-gazde şi a microorganismelor.

Eficienţa biologică a nodozităţilor

Infecţia cu bacterii de nodozităţi începe din stadii foarte timpurii ale dezvoltării plantei-gazdă, după unii autori chiar înainte de epuizarea rezervelor de azot din cotiledoane. După 10-15 zile de la

germinare, cînd plantula execută o fotosinteză evidentă, începe fixarea activă a azotului care se prelungeşte toată perioada de creştere a plantei, atingînd maximul în perioada de înflorire. După datele citate de M. V.Fedorov (1954), nodozităţile tinere în intervale de timp de 3 săptămîni (săptămînile 6-9) pot fixa cantităţi de azot care să depăşească de 1,5 ori greutatea uscată a însăşi nodozităţii. Din acest azot fixat, 75% este transferat plantei-gazdă, şi numai 25% rămîne în nodozităţi. Transferul masiv de azot se reflectă în aspectul exterior al plantei. Astfel, suprafaţa foliară a unei plante de soia infectate este de 1,5 ori mai mare decît a unei plante neinfectate. Majoritatea nodozităţilor este concentrată în acea parte a sistemului radicular care este situată pînă la o adîncime de 15 cm. Dintre acestea, nodozităţile situate pe rădăcina principală sînt mai voluminoase, cu suprafaţa netedă sau rugoasă, intens infectate de bacterii şi vizibil pigmentate în roz datorită prezenţei leghemoglobinei. La aceste nodozităţi activitatea meristematică este prelungită, fapt foarte important în procesul de fixare a azotului molecular. Nodozităţile formate pe rădăcinile laterale sau pe cele din stratele mai profunde ale solului sînt, în general, mici, cu suprafaţă netedă, slab infectate cu bacterii şi nepigmentate. Activitatea meristematică este de scurtă durată, fixarea azotului molecular slabă şi sînt neeficiente.

Forma sub care se găseşte azotul în timpul transferului de la bacteriile fixatoare la plantă este încă subiect de discuţie. In primul rînd nu se poate admite ipoteza că plantele ar obţine azotul combinat prin lizarea şi hidroliza corpului bacterian. Aceasta deoarece se constată că azotul primit de plantă depăşeşte cu mult azotul existent în proteina bacteriană, iar Korsakova constată că cedarea maximă a azotului către plantă are loc în perioada de creştere a nodozităţii, cînd bacteriile sînt vii şi în plină activitate. De asemenea nu poate fi admisă ideea că azotul este transmis sub formă de amoniac, ceea ce ar însemna ca în nodozităţi şi în ţesuturile plantei-gazdă să se acumuleze asparagină, fapt care nu se constată. Cea mai plauzibilă ipoteză este aceea a formării hidraţinelor ca produs primar, care este reluată de cetoacizi (acidul oxalacetic) şi transportată sub formă de compuşi bogaţi în azot, care intrînd în procesul de reaminare duce la sinteza proteinei plantei-gazdă (M. V.Fedorov).

In concluzie, transferarea unei importante cantităţi de azot combinat către planta-gazdă, creşterea virulenţei bacteriilor în urma convieţuirii, specificitatea de rasă indică existenţa unor relaţii strict sim-

biotice şi nu parazitare în cazul nutriţiei bacteriotrofe. Totuşi, această simbioză nu pare absolut obligatorie, deoarece în condiţii de mediu corespunzătoare, simbionţii pot trăi şi separat.

Cu toate laturile neclarificate ale procesului de fixare simbiotică a azotului molecular, este evidentă importanţa teoretică a studierii acestui proces, iar din punctul de vedere al practicii agricole, extinderea procedeului de inoculare a leguminoaselor cu Rhizobium este definită de H.J.C o n n (1948) drept "singura schimbare semnificativă în practica solului care a rezultat din microbiologie".

RIZOSFERA

Un tip foarte interesant de interrelaţii între microorganismele solului şi rădăcinile plantelor superioare este reprezentat prin rizosferă. In acest caz, interrelaţiile nu implică contactul fizic direct între microorganisme şi rădăcini, ca în cazul fixatorilor de azot simbiotici sau în cazul micorizei. Relaţiile biologice şi biochimice între elementele vii participante la rizosferă se realizează prin acţiuni caracteristice asupra solului din jurul rădăcinii, acţiuni de natură fizică, biochimică, trofică. Astfel, rădăcinile plantelor acţionează asupra structurii solului îmbogăţesc local solul în acid carbonic, în substanţe energetice, catalitice (enzime), auxinice. In mod continuu, rădăcinile abandonează resturi tisulare care devenind material nutritiv condiţionează în solul din apropierea lor o dezvoltare intensă a microorganismelor. Totodată, microorganismele a căror acumulare este condiţionată de însăşi rădăcinile plantelor influenţează nutriţia rădăcinii prin mineralizare energică, prin solubilizarea combinaţiilor minerale necesare dar inaccesibile, iar uneori, prin imobilizarea temporară a unor elemente ale nutriţiei minerale.

Zona apropiată de sistemul radicular al plantelor, unde interrelaţiile între microfloră şi plantă sînt deosebit de intense, poartă numele de rizosferă. De obicei în rizosferă se disting două sectoare:

a) o rizosferă apropiată, numită Rizoplan sau Histosferă, care constă dintr-un strat de sol în direct contact cu radicelele;

b) o rizosferă mai îndepărtată, numită Edafosferă, care se întinde de la cîţiva mm de radicele pînă la o distanţă de 50 cm de acestea.

In zona rizosferei, densitatea microorganismelor este sporită şi mai cu seamă în Rizoplan. De aceea se poate considera că într-o anumită măsură, rădăcinile sînt izolate faţă de sol şi toate relaţiile cu acesta sînt mediate de către microorganismele rizosferei. Uneori, de prezenţa microorganismelor poate fi legată chiar starea de sănătate a plantelor.

Problemele legate de biologia rizosferei, actualmente, sînt tratate în numeroase lucrări, deoarece iese în evidenţă din ce în ce mai mult importanţa rizosferei pentru biologia plantelor şi în special a celor agricole. Este necesară în studiul rizosferei, în primul rînd, unificarea metodelor de cercetare, deoarece varietatea lor duce la rezultate necon - cordante.

In ceea ce priveşte studiul analitic al Rizoplanului, rezultatele se pot exprima prin numărul de microorganisme pe gramul de răzătură de pe rădăcini, pe mililitru de lichid de spălare a rădăcinilor, pe gramul de material brut (pămînt + rădăcini măcinate). Alţi cercetători determină efectul rizosferei prin raportul R/S (Rizosferă/Sol) obţinut prin împărţirea numărului de microorganisme găsit în rizosferă la numărul de microorganisme găsit în acelaşi sol luat ca martor la distanţă de rădăcini. Din cercetările întreprinse s-a constatat că efectul rizosferei este dat de numărul considerabil al microflorei din jurul rădăcinilor de plante. Acest spor este în funcţie de întinderea rădăcinilor, regiunea rizosferei studiate, de specia de plantă şi de stadiul de dezvoltare a plantei. După datele lui N. K r a s i l n i k o v, A. I s a k o v a, E. B e r e z o v a etc., s-a stabilit că compoziţia cantitativă a microflorei care se găseşte în contact strîns cu rădăcinile plantelor nu este nici pe departe aceeaşi la diferite specii de plante , iar numărul lor în apropierea rădăcinilor este mult mai mare decît la o oarecare distanţă de rădăcini. În general, numărul de microorganisme din rizoplan este de 10-15 ori mai mare decît cel din edafosferă.

N. K r a s i l n i k o v, determinînd numărul de microorganisme din sol şi din rizosfera rădăcinilor de porumb, floarea-soarelui şi de soia, a stabilit că în rizosfera lor, numărul bacteriilor este de 5-10 ori mai mare decît în solul martor.

De asemenea, în toate perioadele de dezvoltare a plantelor, numărul de bacterii din rizosferă este de cîteva ori mai mare decît în solul martor. In cursul dezvoltării plantelor, densitatea microorganismelor în

rizosferă variază. Astfel, în cursul dezvoltării grîului se înregistrează un maxim al densităţii microorganismelor în rizosferă în timpul formării paiului, iar al doilea, în timpul înfloririi. Aceste variaţii sînt legate de eliberarea de către rădăcini a anumitor substanţe nutritive, stimulatoare, care influenţează direct dezvoltarea microflorei.

Asupra cunoaşterii şi repartizării microorganismelor în rizosferă, rezultatele sînt foarte variate şi de cele mai multe ori contradictorii. In general, într-un mare număr de lucrări ale cercetătorilor sovietici s-a găsit că microflora din jurul rădăcinilor este reprezentată prin bacterii nesporulate de tipul Pseudomonas, dar şi prin alte numeroase microorganisme ce execută cele mai variate procese. Actinomicetele sînt uneori mai frecvente, alteori mai puţin frecvente, aceasta depinzînd de specia de plantă. Ciupercile sînt puţin reprezentate, cu excepţia acelora care formează micorize.

Importanţa agricolă a rizosferei

In interrelaţiile cu plantele agricole, rizosfera intervine în următoarele sensuri, după J.P o c h o n:

1. în modificarea structurii solului;

2. în nutriţia plantelor (în special prin metabolismul azotului şi solubilizarea elementelor minerale);

3. în patologia plantelor (prin controlul infecţiilor patogene).

In modificarea structurii solului, microorganismele au rol important în agregarea particulelor, în special prin secreţia de către acestea a diferitelor substanţe mucilaginoase. Se crede că microorganismele încep procesul de agregare şi că acest proces este desăvîrşit de rădăcini (H u b b e l şi C h a p m a n, 1946). Rolul microorganismelor în agregarea solului a putut fi verificat cu microscopul electronic, unde s-a putut vedea că agregatele se formează adesea în jurul unor microcolonii de bacterii (J a c k s o n, 1947). Insă agregarea solului este mult mai evidentă atunci cînd microorganismele intră în componenţa rizosferei unei rădăcini decît atunci cînd se găsesc singure în sol.

In nutriţia plantelor, rolul rizosferei este multilateral. Astfel, după N.A.Krasilnikov, bilanţul de azot din sol este în strînsă legătură cu activitatea microorganismelor din rizosferă. S-a văzut, de asemenea, că activitatea grupelor mineralizatoare (amonificaţia) este mai mare în rizo-

sferă, şi anume de patru ori mai mare decît în solul martor, însă procesul de nitrificare este puţin modificat. Bilanţul azotului total stabilit prin dozajul nitraţilor nu oferă certitudine, deoarece s-a remarcat că în perioada de recoltă este mai mic în rizosferă faţă de solul martor. La prima vedere, aceasta s-ar traduce printr-o micşorare a activităţii mineralizatoare în zona rizosferei. Acest fenomen în aparenţă paradoxal se explică pe de o parte prin asimilarea azotului direct de către plantă, în perioada de dezvoltare . De fapt, în timpul recoltelor se remarcă o mineralizare adesea foarte activă, însoţită de o pierdere de azot nitric prin denitrificare, o levigare activă, o fixare a azotului nitric sub formă proteică (prin sinteza proteică a bacteriilor din rizosferă), în sfîrşit reţinerea nitraţilor de către plantele de cultură. Rolul rizosferei în metabolismul azotului este în esenţă un rol activ în toate procesele metabolice. Rizosfera accelerează circuitul azotului sub diferite forme, astfel încît planta poate totdeauna să găsească condiţiile pentru extragerea din sol a azotului mineral de care are nevoie. Din aceleaşi motive, bilanţul azotului este dinamic şi nu poate fi studiat prin dozări de nitraţi în sol şi rizosferă.

In solubilizarea elementelor minerale, rolul microorganismelor este bine cunoscut. Se cunoaşte, de exemplu, rolul acestora în ciclul sulfului, fosforului şi al fierului. Toată această microfloră cu un metabolism foarte activ degajă în sol o cantitate însemnată de CO_2. Astfel, calciul din carbonat - $CaCO_3$ - insolubil, poate fi redat la dispoziţia plantelor. Din cercetările întreprinse s-a constatat că rădăcinile sterile atacă mult mai slab marmora decît rădăcinile normale (F r e d şi H a a s, 1919), acelaşi lucru pentru fosfor, a cărui absorbţie de către plante se poate dubla în solurile normale faţă de solul sterilizat (G e r r e t s e n, 1949).

Un caz particular se întîmplă cu manganul. Bacteriile oxidante din rizosferă îl insolubilizează, provocînd o carenţă pentru plantă în acest microelement. S-a verificat că plantele, şi în special ovăzul, pot suferi de "pătarea cenuşie" atunci cînd rizosfera este bogată în asemenea bacterii. Distrugerea bacteriilor oxidante prin diferite antiseptice face să dispară această boală. In afară de aceste fenomene, microorganismele pot acumula în corpul lor diferite elemente minerale care pot fi considerate ca o rezervă, deoarece vor fi puse la dispoziţia plantelor după moartea şi mineralizarea lor. Aşa se întîmplă cu azotul şi fosforul care intră în constituţia celulelor bacteriene (V l a s i u k şi M a n z o n, 1955).

De asemenea s-a emis ipoteza că o activitate exagerată a microflorei, din rizosferă poate să perturbe nutriţia minerală a plantelor, prin consumarea foarte intensă a oxigenului din solurile rău aerate şi printr-o degajare exagerată de CO_2 (W a d l e i g h, 1955).

In patologia plantelor, rizosfera are o importanţă pozitivă. Incă de mult timp s-a constatat că rădăcinile plantelor înconjurate de rizosferă sînt mult mai rezistente la atacul ciupercilor parazite decît rădăcinile sterile. Astfel, grîul crescut în condiţii normale rezistă la atacul ciupercii Phytomatotrichum şi este atacat şi distrus în cultură sterilă (E a t o n şi R i g l e r, 1946). De asemenea se ştie că în sînul aceleiaşi specii de plantă, există varietăţi mai sensibile sau mai rezistente la infecţii şi în mod general microorganismele sînt în număr mai mare în rizosfera varietăţilor sensibile. Acest rezultat se leagă de faptul că rădăcinile varietăţilor rezistente elimină în mediu secreţii inhibitoare pentru dezvoltarea ciupercilor parazite. Astfel se poate cita cazul rădăcinilor varietăţilor rezistente de in, care eliberează o substanţă inhibitoare (glucozidul linamarină), de asemenea extrasele acestor varietăţi micşorează creşterea lui Fusarium lini. Fapte asemănătoare s-au observat şi în cazul cruciferelor. Varietăţile ce secretă sinigrină şi gluconesturină sînt rezistente la atacul de Plasmodiophora brassicae (R i c h l i n, 1933). Importanţa teoretică şi practică a rizosferei reies în plus din faptul că prin influenţarea vieţii microorganismelor rizosferei, se poate realiza un cont[illegible] biologic al infecţiei, precum şi o profilaxie a patogenităţii solului pentru anumite plante. Astfel, introducîndu-se în sol resturi de leguminoase, care modifică microflora prin intensificarea fermentaţiei hidraţilor de carbon, se normalizează echilibrul microbiologic al solului, ceea ce frînează dezvoltarea anumitor infecţii. In mod concret s-a stabilit că încorporarea în sol a făinii de soia, pe de o parte, stimulează creşterea bacteriană, iar pe de altă parte, determină germinarea conidiilor "dorminde" a ciupercii Helminthosporium sativum, ceea ce evită îmbolnăvirea grîului. Aplicarea acestui tratament înaintea însămînţării face să se dezvolte o microfloră abundentă care lizează miceliile ieşite din conidiile de Helminthosporium, neafectate de alte tratamente, cum ar fi cel cu fungicide (C h i n n, L e d i n g h a m, S a l l a n s şi S i m m o n d s, 1953).

Din cele cîteva fapte expuse reiese complexitatea interrelaţiilor dintre plante şi rizosferă, fapt care duc la ideea că prezenţa bacteriilor condiţionează dezvoltarea normală a plantelor.

Rizosfera influenţează şi asimilarea îngrăşămintelor minerale administrate în sol. Astfel, L.M.D o r o s i n s k i constată că administrarea unui amestec de săruri minerale de azot, potasiu şi fosfor în soluri sterilizate nu influenţează simţitor dezvoltarea plantelor. Dacă o dată cu îngrăşămîntul se adaugă şi o suspensie de microorganisme din sol, sporul de recoltă este foarte mare. Mai mult, se constată că adăugarea în solul steril numai a suspensiei de bacterii duce la dublarea recoltei faţă de cazul solului steril îngrăşat numai cu NPK.

Influenţa favorabilă a bacteriilor de rizosferă s-a observat şi în culturi sterile de vîrfuri ale rădăcinilor cultivate în medii organo - minerale agarizate. Această influenţă este inegală, depinzînd de specificul plantei şi de caracteristicile fiziologice ale bacteriei. Astfel, Krasilnikov, experimentînd cu vîrfuri de rădăcini de mazăre, trifoi, porumb, cultivate <u>in vitro</u> pe un mediu nutritiv agarizat conţinînd 2% glucoză, constată că culturile vii de Azotobacter şi bacterii de nodozităţi adăugate în acest mediu inhibă creşterea rădăcinilor izolate, în timp ce culturile distruse stimulează creşterea acestora. Aceasta arată că prin moartea bacteriilor se eliberează în mediu substanţe cu caracter stimulator.

In concluzie se poate afirma că studiul multilateral al rizosferei trebuie intensificat, deoarece efectele sînt incontestabile şi pot fi dirijate în sensurile cele mai favorabile dezvoltării plantelor şi deci măririi producţiei agricole.

Capitolul XV

PREPARATE MICROBIOLOGICE PENTRU FERTILIZAREA SOLURILOR

Particularitatea pe care o au plantele leguminoase de a convieţui simbiotic cu bacteriile de nodozităţi dă posibilitate acestora de a se nutri cu azot combinat, realizînd recolte normale şi pe soluri sărace în săruri azotate. Numeroase experienţe au arătat însă că plantele leguminoase semănate pentru prima dată pe un anumit sol pot să nu găsească în el bacteriile de nodozităţi specifice lor. Pe aceste soluri, plantele leguminoase se vor comporta ca şi celelalte plante agricole. Introducînd în sol bacteriile corespunzătoare, se activează fixarea simbiotică a azotului molecular şi astfel se ajunge la mărirea recoltei.

Practica agricolă veche a recurs la "infestarea" solului pe care se cultivau pentru prima dată leguminoase prin transportul de sol de sub leguminoase. Această tehnică a fost cu mult perfecţionată după descoperirea bacteriilor simbiotice fixatoare de azot, cînd s-a dezvoltat tehnica cultivării în cantităţi mari şi administrării raţionale a aşa-numitelor îngrăşăminte bacteriene.

Primul preparat bacterian a primit denumirea de nitragin şi a fost produs pentru prima dată de N o b b e şi H i l t n e r, în anul 1897, în Anglia şi conţinea un amestec de specii şi rase de Rhizobium, caracteristice pentru 19 specii de leguminoase. La noi în ţară, primul îngrăşămînt bacterian, nitragin, a fost preparat la I.C.A.R., în anul 1936 sub îndrumarea lui T r a i a n S ă v u l e s c u, fiind recomandat în special pentru soia.

Actualmente, îngrăşămintele bacteriene s-au diversificat cuprinzînd atît fixatori de azot, simbiotici sau liberi, cît şi alte bacterii a căror activitate biochimică este importantă pentru fertilitatea solului.

NITRAGINUL

Este un preparat bacterian care conţine celule ale diferitelor rase de bacterii de nodozităţi, corespunzătoare diferitelor specii sau grupuri de specii de leguminoase cultivate sau de nutreţ, ca nitragin-soia, nitragin-trifoi, nitragin-lucernă şi sulfină, nitragin-mazăre, măzăriche, latir, bob, linte, nitragin-fasole etc.

Actualmente, nitraginul se prepară pe scară industrială în laboratoare utilate special.

O nodozitate viguroasă de pe axul principal al rădăcinii de leguminoasă se dezinfectează şi se dispersează în apă sterilă. Suspensia obţinută poate fi trecută într-un mediu de cultură steril şi înmulţită în vederea întrebuinţării în teren, sau se procedează la separarea de culturi pure pornind de la o singură celulă, în vederea obţinerii de tulpini foarte active şi standardizate.

Pentru aceasta, din suspensia obţinută în apă sterilă se execută diluţii succesive, pînă se ajunge la posibilitatea obţinerii de colonii izolate. Aceste diluţii sînt de ordinul 10^{-5} - 10^{-6}. Cîte un milimetru din aceste suspensii se trece în vase Petri, sterile, în care se adaugă mediu nutritiv pregătit după reţete speciale şi agarizat. La temperatura de +26° - 28°C, în curs de 3-12 zile, se dezvoltă colonii izolate provenite de la o singură celulă. Tulpinile astfel purificate se verifică pe medii test pentru a se constata caracteristicile culturale şi biochimice ale tulpinii. Apoi fiecare tulpină este verificată pe plante în vase de vegetaţie, cînd se pot constata afinităţile pentru anumite specii de leguminoase, precum şi intensitatea fixării azotului molecular. Astfel se aleg tulpini bacteriene selecţionate care se verifică în cîmp. In producţia pe scară industrială se foloseşte un mediu complex, cuprinzînd substanţe minerale şi extract de drojdie de bere sau de seminţe de fasole. Din cultura bacteriană lichidă astfel obţinută, se infectează flacoane de 0,5 litri conţinînd sol humos, bine structurat cu adaos de $CaCO_3$ (pentru corectarea pH-ului), glucide şi microelemente. Inainte de infectare, acest sol se sterilizează. Actualmente se utilizează mult şi fabricarea nitraginului pe substrat agarizat. După o incubaţie de 5-8 zile, la +26-28°C, cultura definitivă de nitragin ajunge la densitatea de 100 milioane pe gramul de substrat. In cazul unui preparat cu un asemenea titru, sînt suficiente două flacoane pentru hectarul de sol însămînţat cu leguminoase. Eficacita-

tea preparatului se păstrează 3-9 luni, dacă se conservă într-un spaţiu relativ uscat, la o temperatură de +3 - 1o°C, ferit de îngheţuri şi dezgheţuri repetate. Pentru administrare, preparatul se dispersează în apă (un flacon la 1,5-2 litri apă) şi se umectează seminţele înainte de semănat.

AZOTOBACTERINUL

Este un preparat azotofixator de Azotobacter chroococcum (nesimbiotic), care se poate administra în soluri aerate sărace în azot asimilabil şi cu reacţie apropiată de neutralitate. Pentru prima dată a fost utilizat în anul 19o3, de către G e r l a c h şi V o g e l, iar în România, în anul 1944 a fost preparat de I.C.A.R. Pe lîngă activitatea de fixare a azotului (2o-4o kg anual pe hectar). Azotobacter eliberează în sol substanţe stimulatoare, mai cu seamă vitamine şi heteroauxină.

Pentru preparare se izolează tulpini de Azotobacter chroococcum din rizosfera plantelor de cultură. După verificarea purităţii şi testarea activităţii azotofixatoare, se trece la înmulţirea pe cale industrială în vederea preparării îngrăşămîntului. De obicei se fac preparate pe medii lichide sau agarizate cu o densitate de cel puţin 4o milioane de celule pe gramul de azotobacterin. Termenul de păstrare este de numai cîteva săptămîni. Incorporarea în sol se face stropind cu azotobacterin lichid şi diluat sau cu o suspensie colectată de pe agar, a semințelor, tuberculilor sau a materialului săditor. Pentru o eficacitate maximă a azotobacterinului, solul trebuie să aibă un pH neutru, să fie afînat, bogat în materie organică, în microelemente şi mai cu seamă îm Mo, B, Mn şi să conţină macroelemente în stare accesibilă şi în special fosfor şi potasiu.

FOSFOROBACTERINUL

In sol, cea mai mare cantitate de fosfor se găseşte în stare inaccesibilă pentru plante, şi anume, de fosfor organic. De aceea, folosirea

de bacterii care ar elibera fosforul din substanţa organică ar putea avea o influenţă pozitivă asupra fertilităţii solului. O astfel de bacterie este Bacillus megaterium var. phosphaticus, pe baza căruia s-a preparat pentru prima dată în U.R.S.S., în anul 1936, fosforobacterinul. Acest preparat bacterian este foarte binevenit, mai cu seamă în cernoziomuri unde fosforul se găseşte cel mai adesea sub formă de compuşi organici inaccesibili, pe care această bacterie îi mineralizează energic. Astfel s-a stabilit experimental că aplicarea fosforobacterinului sporeşte conţinutul solului în fosfor accesibil cu 15-50%.

Fosforobacteriile stimulează totodată activitatea bacteriilor nitrificatoare şi azotofixatoare şi pot opri dezvoltarea unor specii patogene. La noi în ţară, experimentarea şi prepararea fosforobacterinului a început în anul 1955, la Staţiunea experimentală de preparate microbiologice. In prezent, fosforobacterinul se prezintă sub formă de preparate lichide sau uscate. Pentru prepararea fosforobacterinului lichid, inoculul izolat din sol şi purificat se introduce în tancuri de 500-1 000 l cu mediu nutritiv steril. Dacă se barbotează aer sterilizat la temperatura de +27 - 28°C, după 24 de ore, densitatea bacteriilor atinge 800-1 000 de milioane pe ml, celulele trecînd totodată în stare latentă de sporulaţie. Cultura astfel obţinută se repartizează în flacoane sterile bine astupate care se păstrează la temperaturi scăzute pozitive. Pentru prepararea fosforobacterinului uscat, celulele sporulate de bacterii fosfatice se separă de mediul lichid şi se usucă, apoi se amestecă cu caolin pînă la densitatea de 8 miliarde spori pe gramul de îngrăşămînt. Sînt suficiente 5 grame de fosforobacterin uscat pentru tratarea seminţelor necesare însămînţării unui hectar. In cazul fosforobacterinului lichid, sînt necesari 50 ml pentru un hectar, iar în cazul cartofului, porumbului şi culturilor de legume răsădite, cîte 150 ml la hectar, administrat prin stropirea seminţelor sau a rădăcinilor răsadurilor cu o suspensie diluată. Fosforobacterinul uscat se aplică prin prăfuire.

SILICOBACTERINUL

Este un preparat bacterian format dintr-o cultură de Bacillus mucilaginosus sp. siliceus, care are proprietatea de a descompune aluminosilicaţii, eliberînd astfel potasiul, care devine accesibil plantelor. Această activitate biochimică este importantă, deoarece silicaţii de aluminiu con-

stituie o rezervă masivă, dar inaccesibilă de potasiu. Totodată s-a constatat că acest bacil mai are şi capacitatea de a solubiliza unii compuşi ai fosforului din sol.

Modul de preparare este asemănător azotobacterinului. La noi în ţară, Staţiunea experimentală de preparate microbiologice livrează silicobacterinul în flacoane de 2oo-25o ml, în care la suprafaţa unui mediu agarizat se găsesc bacteriile înglobate într-o masă mucilaginoasă. Un flacon conţine 35-5o miliarde de celule, pentru un hectar fiind suficiente 2-4 flacoane. Se poate aplica în orice soluri şi pentru orice plante, eficienţa lor sporind în amestec cu azotobacterinul şi fosforobacterinul.

COMPLEXUL BACTERIAN M.A.B

Cuprinde un amestec de bacterii mineralizatoare, nitrificatoare, azotofixatoare, fosforotiobacterii, care împreună constituie "microflora autohtonă B". Administrarea acestui îngrăşământ este deosebit de importantă în podzolurile de ţelină în care aciditatea împiedică dezvoltarea microorganismelor şi mai cu seamă a celor care mineralizează humusul. La fel de importantă este administrarea acestui îngrăşământ în solurile nordice unde îngheţurile repetate distrug în cea mai mare parte microflora autohtonă. Prin administrarea îngrăşământului primăvara, această microfloră se restabileşte mult mai repede decît în condiţii naturale, favorizînd astfel nutriţia minerală a plantelor.

Ingrăşământul M.A.B. se prepară pe un substrat de turbă semidescompusă, pentru aceasta nefiind necesare întreprinderi speciale. Turba semidescompusă se usucă, se mărunţeşte, se cerne şi se amestecă cu calcar în proporţie de 1o%. După aceea se umezeşte pînă la 6o% din capacitatea totală pentru apă. Inocularea se face prin stropire uniformă cu un lichid de cultură-mamă, primit de la fabricile de îngrăşăminte bacteriene, sau în lipsă, se amestecă cu 5o kg sol de grădină pentru o tonă de turbă prelucrată. Se depozitează în camere încălzite la +2o, +25°C, în grămezi de maximum un metru înălţime, pe un substrat de paie sau gunoi de grajd în fermentaţie, gros de 2o-25 cm. Pentru a evita supraîncălzirea, se lopăteazăamestecul şi se umezeşte periodic pentru menţinerea constantă a umidi-

tăţii. In aceste condiţii, în circa 3 săptămîni, îngrăşămîntul este gata de folosire, de aceea se prepară cu 4-6 săptămîni înainte de perioada însămînţărilor. Se administrează 250-500 kg la hectar în timpul pregătirii terenului de însămînţare. Ingrăşămîntul se împrăştie uniform pe cîmp sau se introduce în cuiburile de plantare.

ALTE PREPARATE CU MICROORGANISME

In diferite scopuri agrotehnice, se experimentează şi se folosesc o serie de preparate bacteriene, dintre care rezultate mai concrete au dat următoarele: Pseudomonas calcis (grup de bacterii neidentificate cu proprietăţi de a solubiliza fosfaţii de calciu insolubili) şi ciupercile de micoriză (Boletus edulis şi B. suhomentosus), care se folosesc la tratarea puieţilor de plante lemnoase micotrofe. Rezultate pozitive s-au obţinut la stejar şi se experimentează aplicarea lor la arbori fructiferi. Se mai experimentează preparate cu Pseudomonas sinuosa, cu bacterii acidolactice, culturi de ciuperci saprofite etc. Astfel de preparate au capacitatea de a recondiţiona sub aspect biochimic anumite soluri, ceea ce favorizează nutriţia şi dezvoltarea plantelor de cultură.

CONDIŢIILE DE FOLOSIRE ŞI EFICIENŢA PREPARATELOR BACTERIENE

Preparatele bacteriene sînt o masă de microbi vii, care se introduc în sol în vederea recondiţionării biochimice active a acestuia. Prin urmare, condiţia esenţială pentru folosirea îngrăşămintelor bacteriene de fertilizare este existenţa în sol a substratului nutritiv şi condiţiile fizico-chimice pentru dezvoltarea normală a microbilor. Principalele condiţii ale eficacităţii preparatelor bacteriene sînt: existenţa în sol a materiei organice, a unui regim hidric şi aerian favorabil, prezenţa microelementelor şi macroelementelor (chiar dacă sînt în stare inaccesibilă), o reacţie pH neutră, o temperatură mai mică de +40°C. De aceea, apli-

carea preparatelor bacteriene trebuie precedată de o atentă cercetare a solurilor în care se aplică. Aceasta a dus la dezvoltarea în diferite ţări a unor instituţii specializate, destinate să cerceteze de la sol la sol posibilităţile şi metodele de ameliorare prin preparate microbiene de fertilizare. In România, în anul 1954, pe baza laboratorului existent în cadrul Ministerului Industriei Alimentare, se înfiinţează afiliat fostului Minister al Agriculturii Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene, care începînd din anul 1961, produce cantităţi importante de variate preparate microbiologice: şapte feluri de nitragin, azotobacterin, fosforobacterin şi silicobacterin.

Din numeroasele experienţe ale acestui centru, reiese în primul rînd ineficacitatea preparatelor bacteriene în solurile acide şi în condiţii de secetă. Se mai consideră în principiu că eficacitatea preparatelor şi mai ales a celor bazate pe bacterii nesimbiotice este mai mare cînd se administrează în amestec.

Eficienţa nitraginului depinde de o serie de condiţii fizico-chimice ale solului. Aciditatea solului este nefavorabilă acţiunii bacteriilor de nodozităţi şi numai tratarea solului cu calcar face să se resimtă acţiunea favorabilă, atît în privinţa numărului de plante infectate cît şi în privinţa numărului de nodozităţi pe plantă şi în privinţa recoltei. Pentru dezvoltarea bacteriilor, umiditatea cea mai favorabilă a solului este de 60-80% din capacitatea totală pentru apă. Prezenţa aerului în sol (condiţionată de o bună structură) este necesară atît pentru respiraţia microbilor cît şi pentru accesul azotului. Temperatura optimă pentru activitatea bacteriilor este cuprinsă între +15° şi +25°C, dar bacteriile continuă să activeze şi între 0° şi +10°C. Ingheţul şi dezgheţul repetat distrug bacteriile de nodozităţi. La temperaturi de peste 30°, virulenţa scade simţitor. De asemenea, este necesară existenţa în sol a unor mici cantităţi de azot accesibil pentru dezvoltarea iniţială a plantei, deoarece bacteriile încep să asimileze azot atmosferic numai după 10-15 zile de la infecţie. O altă condiţie importantă pentru eficacitatea nitraginului este prezenţa în sol a P şi K, precum şi a B şi Mn, care condiţionează buna dezvoltare a sistemului radicular şi a perilor absorbanţi prin care se desfăşoară infecţia bacteriană. Dacă aceste condiţii sînt satisfăcute, sporurile de recoltă de boabe şi masă verde de leguminoase oscilează între 5 şi 20%.

Azotobacterinul, ca şi nitraginul, nu este eficace pe solurile acide, uscate, neaerisite şi lipsite de substanţă organică. Dezvoltarea bună a

Azotobacterului mai este condiţionată de prezenţa fosfaţilor asimilabili şi a microelementelor, ca Mo, B, Mn. Cînd aceste condiţii sînt satisfăcute, sporurile de recoltă sînt variabile, depinzînd de cultură şi de particularităţile solurilor. La cereale, uneori se obţin sporuri pînă la 15% , la cartofi s-au obţinut sporuri de 2 600 kg la hectar, la sfecla de zahăr (în U.R.S.S.), pînă la 3 000 kg la hectar.

Condiţiile eficacităţii maxime a fosforobacterinului sînt asemănătoare îngrăşămintelor precedente. Importantă este mai ales prezenţa substanţei organice, prin descompunerea căreia Bac.megaterium var.phosphaticus eliberează fosfat mineral asimilabil. In cazul satisfacerii optime a condiţiilor cerute, administrarea de fosforobacterin, după cercetările sovietice, duce la un spor de recoltă de 10-12%. Pe cernoziomuri, cerealele dau un spor de 100-300 kg/ha; pe soluri acide podzolice, eficacitatea fosforobacterinului este nulă. Administrarea concomitentă de îngrăşăminte organice măreşte simţitor eficacitatea. Rezultate pozitive s-au obţinut în 70-80% din cazuri.

Silicobacterinul se poate considera încă în fază experimentală. Acest preparat dă rezultate foarte variabile în funcţie de plantă şi sol.

Complexul bacterian M.A.B. se poate întrebuinţa pe orice sol şi experienţele cercetătorilor sovietici au scos în evidenţă sporuri de 200-300 kg la hectar la cereale, şi 100-3 000 kg la hectar la cartof pe podzol de ţelină.

In general, în afară de nitragin, a cărui eficacitate şi mod de acţiune sînt clarificate pe deplin, problema celorlalte preparate bacteriene mai cere multe experienţe şi discuţii teoretice.

B I B L I O G R A F I E

1. A l e x a n d e r M. Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons, New-York - London 1961.

2. B ă l a n N. şi alţii. Cercetări asupra folosirii de bacterii pectinolitice anaerobe la topitul inului şi cînepii. Editura agrosilvică-Bucureşti, 1960. Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul II.

3. B a l i n s c h i I. şi alţii. Cercetări asupra stabilirii relaţiilor dintre unele tulpini de Azotobacter chroococcum şi Bacillus megaterium var.phosphaticus. Editura agrosilvică-Bucureşti, 1960. Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" vol.III.

4. B e k k e r Z.E. Fiziologhiia gribov i ih prakticeskoe ispolîzovanie. Izdatelstvo Moskovskogo Universiteta Moskva, 1963.

5. B j o r k m a n E. Priroda mikorizî i eë ispolîzovanie v lesovodceskoi praktike. Izdatelstvo selscohoziaistvennoi literaturî, Moskva 1963.

6. B o u l l a r d B. Les mycorrhizes, présentation et explication des termes qui s'y rapportent. "Annales scientifiques de l'Université de Besançon" 1959, 2e serie Botanique, fascicule 14.

7. B o u l l a r d B. Les arbres et les mycorrhizes. "Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie" 1959, 9e serie, 9e volume.

8. B r e e d S.R., şi alţii. Bergey's manual of determinative Bacteriology. Ed. Williams and Wilkins 1957, Baltimore.

9. B u r g e f f H. Problematik der Mycorhiza. "Die Naturwissenschaften", tom.47/48, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1943.

10. C a l a n c e a L. Ecologia Azotobacterului în principalele tipuri de sol din Ardeal. Autoreferat, Institutul Agronomic, Bucureşti, 1956.

11. C a l a n c e a L. Ingrăşăminte bacteriene. "Probleme agricole" 6/1954. Ministerul Agriculturii în colaborare cu A.S.I.T., 1954.

12. C h a d e f a u d M. Les végétaux non vasculaires /Criptogamie/. Masson et C-ie Éditeurs Paris, 1960.

13. C h i r i ţ ă C o n s t. D. Pedologie generală. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1955.

14. C h i r i ţ e s c u-A r v a M. Agrologie. Partea I. Editura Cartea Românească, Cluj, 1924.

15. C o n s t a n t i n e a n u M. Curs de Zoologia nevertebratelor, volumul I. Editura Institutului Politehnic, Iaşi 1951.

16. D a v i d e s c u D a v i d. Agrochimia. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1963.

17. D o r o s i n ţ k i L.M. Ingrăşăminte bacteriene. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960.

18. F e d o r o v M.V. Microbiologia solului. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1957.

19. F e d o r o v, M.V. Mikrobiologhiia. Izdatelstvo Selskohoziaistvennoi literaturî, Moskva, 1963.

20. F e d o r o v M.V. Rukovodstvo k prakticeskim zaniatiiam po mikrobiologhii. Izdatelstvo selskohoziaistvennoi literaturî, Moskva, 1957.

21. F l o r e a N. Curs de Geografia solurilor cu noţiuni de pedologie. Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1963.

22. F l o r e a N. Cercetarea solului pe teren. Editura ştiinţifică, Bucureşti, 1964.

23. G a r k u ş a I.F. Pocîvovedenie. Izdatelstvo selskohoziaistvennoi literaturî, Moskva-Leningrad, 1963.

24. G h e n k e l P.A. Fiziologhiia rastenii s osnovami mikrobiologhii. Gosudarstvennoe izdatelstvo ucebno-pedagoghiceskoi literaturî, Moskva, 1958.

25. G h e o r g h i u V. şi alţii. Rezultatele preliminare cu privire la producerea îngrăşămîntului bacterian Azotobacterin sub formă uscată. Editura Agrosilvică-Bucureşti, Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul II, 1960.

26. G h i ş a E. Botanica sistematică (plante inferioare). Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1964.

27. G u i l l e r m o n d A. et M a n g e n o t G., Biologie végétale. Masson et C^ie Éditeurs, Paris, 1946.

28. H a r l e y L.J. The Biology of Mycorrhiza, London, 1959.

29. H u l p o i N. şi alţii. Aspecte microbiologice din cultura irigată şi neirigată a porumbului dublu hibrid şi a grîului de toamnă pe cernoziomul mediu degradat de la Fundulea. Editura Agrosilvică, Bucureşti, 1960. Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul III, 1960.

30. I e n i ş t e a C. Microbiologia alimentelor. Editura medicală, Bucureşti, 1958.

31. I m ş e n e ţ k i A.A. Beskletocinaia fiksaţiia azota. Izdatelstvo "Nauka" Moskva, 1964. (In volumul "Uspehi mikrobiologhii")

32. K a y s e r E. Microbiologie agricole. Librairie J.B.Bailliere et fils Paris, 1905.

33. K a y s e r E. Microbiologie appliquée à la fertilization du sol. Librairie J.B.Bailliere et fils, Paris, 1921.

34. K r a s i l n i k o v, N.A. Antagonismul microbian şi substanţele antibiotice. Academia Republicii Populare Române - Institutul de studii româno-sovietic, Bucureşti, 1961.

35. x x x Kratkaia himiceskaia entiklopediia, vol.I. Gosudarstvennoe naucinoe izdatelstvo "Sovetskaia entiklopediia", Moskva, 1961.

36. x x x Mikroorganizmî v seliskom hoziaistve. Izdatelstvo Moskovskogo Universiteta, Moskva, 1961.

37. M e s r o b e a n u L., P ă u n e s c u E. Fiziologie bacteriană. Editura Academiei Republicii Populare Române, Bucureşti, 1960.

38. N e g r u A. şi alţii. Indrumător pentru determinarea ciupercilor fitopatogene, fascicula 2. Litografia învăţămîntului, Cluj, 1956.

39. O m e l i a n s k i V.L. Izbrannîe trudî. Izdatelstvo Akademii Nauk SSSR, Moskva, 1953.

40. O p r e a C.V. Pedologie agricolă, Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960.

41. P a p p C. Curs de Botanică sistematică, fascicula 1 Litografia învăţămîntului, secţia Iaşi, 1955.

42. P e i v e I.V. Biohimiia pocîv. Gosudarstvennoe izdatelstvo selskohoziaistvennoi literaturî, Moskva, 1961.

43. P o c h o n J., B a r j a c H. de, Traitê de Microbiologie des sols. Dunod, Paris, 1958.

44. P o c h o n J., Y a o-T s a e n g T c h a n. Précis de microbiologie du sol. Masson et C^ie Editeurs, Paris, 1948.

45. P o p E. şi alţii. Fiziologia plantelor, volumul I, Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1964.

46. P r o k o f i e v a-B e l g o v s k a i a A. Stroenie i razvitie Aktinomitetov. Izdatelstvo Akademii Nauk SSSR Moskva, 1963.

47. R u b i n B.A. Kurs fiziologhii rastenií. Gosudarstvennoe izdatelstvo "Vîsşaia şkola" Moskva, 1961.

48. R u s s e l J o h n E., Soil conditions & plant growth. London-New York - Toronto, 1950.

49. S ă v u l e s c u O l g a. Fitopatologie - partea II. Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1962.

50. S ă v u l e s c u O l g a. Curs de micologie - Tipografia şi Litografia învăţămîntului, Bucureşti, 1956.

51. S e v e r i n V. şi alţii. Cercetări asupra relaţiilor dintre Bacillus megaterium var phosphaticus şi Rhizobium leguminosarum. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960. Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul II.

52. S o r u E u g e n i a. Biochimie medicală, vol.I. Editura medicală, Bucureşti, 1959.

53. Ş a p o ş n i k o v V.N. Tehniceskaia mikrobiologhiia. Izdatelstvo Sovetskaia nauka, Moskva, 1948.

54. Ş t e f a n i c G. şi alţii. Contribuţii la studiul metodelor de păstrare a bacteriilor de nodozităţi. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960. Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul III, 1960.

55. Ş t e f a n i c G. şi alţii. Unele rezultate obţinute prin liofilizarea bacteriilor de nodozităţi. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960. Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice", 1960.

56. S t e w a r d F.C. Plant Physiology, vol. III, Academic Press New-York and London, 1963.

57. S t ă n e s c u E. şi alţii. Cercetări pentru izolarea micorizelor şi folosirea lor la stejar. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960, Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul II.

58. V a s i l e s c u I. Enzimele. Editura Academiei Republicii Populare Române, Bucureşti, 1961.

59. V î n t u O. Dinamica fixării azotului molecular şi a consumului de glucoză în culturile de Azotobacter chroococcum. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960, Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul II, 1960.

60. Z a r m a M. Microbiologie generală. Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1964.

61. Z a r n e a G. Microbiologie. Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1963.

62. Z a r n e a G., N e s t o r e s c u E. Consideraţii asupra metodelor de apreciere cantitativă a microorganismelor din sol. Editura agrosilvică, Bucureşti, 1960, Centrul experimental de îngrăşăminte bacteriene "Lucrări ştiinţifice" volumul III, 1960.

63. W a l l e n L.L. şi alţii. Type reactions in fermentation chemistry. Agricultural Research Service, U.S.A., 1959.

64. W o l k e n J.J. The photochemical apparatus its structure and function. Biology department Brookhaven laboratory Upton, New York, 1959.

65. x x x VIII-ème Congrès International de la science du sol. Résumés des communications. III-Biologie du sol. Publishing House of the Academy of the R.P.R., Bucarest, 1964.

C U P R I N S U L

	Pag.
Introducere	3
Obiectul microbiologiei solului	4
Scopul şi sarcinile microbiologiei solului	5
Importanţa practică a microbiologiei solului	6
Metodele microbiologiei solului	9
Scurtă privire istorică asupra microbiologiei solului	9

Partea I. **BIOLOGIA MICROORGANISMELOR DIN SOL**

Cap. I.	Solul ca mediu de existenţă pentru microorganisme	15
	Alcătuirea generală a solului	15
	Formarea solului	18
	Compoziţia chimică a solului	19
	Morfologia solurilor	21
	Principalele tipuri de sol de pe glob	23
	Răspîndirea microorganismelor în sol	26
Cap. II.	Interrelaţiile dintre diferitele grupe de microorganisme din sol	
	Antagonismul	3o
	Simbioza	3o
	Metabioza	32
		33
Cap. III.	Bacteriile din sol	
	Morfologia bacteriilor din sol	34
	Multiplicarea bacteriilor din sol	37
	Sistematica bacteriilor din sol	4o
		42
Cap. IV.	Ciupercile din sol (Phyllum mycophyta)	
	Morfologia ciupercilor din sol	52
	Reproducerea ciupercilor	52
	Sistematica principalelor ciuperci din sol	53
	Particularităţile biochimice ale ciupercilor din sol	53
	Răspîndirea ciupercilor şi importanţa lor în biologia solului	59
		6o

		Pag.
Cap.V.	Algele din sol	63
	Phyllum Cyanophyta (Schizophyceae, Cyanaschizophyceae)	63
	Phyllum Bacillariophyta (Diatomee)	66
	Phyllum Chlorophyta	68
	Phyllum Heterocontae (Heteroflagellate)	71
	Răspîndirea şi rolul algelor în sol	72
Cap.VI.	Protozoarele din sol (Phyllum protozoa)	74
	Reprezentanţii principali ai protozoarelor din sol	76
	Răspîndirea şi importanţa protozoarelor în procesele din sol	78
Cap.VII.	Viruşii din sol	82

Partea a II-a. PRINCIPALELE PROCESE MICROBIOLOGICE DIN SOL

Cap.VIII.	Descompunerea substanţelor organice neazotate	87
	Degradarea hemicelulozelor	88
	Degradarea amidonului	89
	Procese de descompunere anaerobă. Fermentaţia butirică	9o
	Fermentaţia butirică a substanţelor pectice	93
	Fermentaţia butirică a celulozei	95
	Fermentaţia acetono-butilică	98
	Descompunerea anaerobă a acizilor organici	1o1
	Procesele de descompunere aerobă. Descompunerea aerobă a celulozei	1o2
	Oxidarea ligninei şi pentozanelor	1o7
	Oxidarea substanţelor pectice	1o8
	Oxidarea grăsimilor	11o
	Oxidarea hidrocarburilor din seria alifatică	111
	Oxidarea hidrocarburilor din seria aromatică	112
	Oxidarea hidrogenului	113
	Ciclul biologic al carbonului în natură	115
Cap.IX.	Descompunerea substanţelor organice azotate	116
	Amonificarea substanţelor proteice	117
	Descompunerea chitinei	125
	Amonificarea acidului uric şi hipuric	126
	Hidroliza ureei	127
	Hidroliza cianamidei de calciu	129
Cap.X.	Oxidarea compuşilor minerali din sol şi microorganismele care participă la aceste procese	131
	Nitrificarea	131
	Fiziologia şi biochimia nitrificării	134
	Chimismul şi energetica nitrificării	135
	Fiziologia microorganismelor nitrificatoare	136
	Importanţa nitrificării pentru agricultură	138
	Oxidarea sulfului ; bacterii sulfooxidante	138

Scanned with OKEN Scanner

		Pag.
Cap.XI.	Reducerea compuşilor minerali din sol	145
	Denitrificarea. Denitrificarea directă	145
	Procesele biochimice ale denitrificării	147
	Denitrificarea indirectă	149
	Importanţa denitrificării pentru agricultură	150
	Reducerea sulfaţilor pînă la hidrogen sulfurat	151
	Transformările compuşilor fosforului de către microorganisme	154
	Mineralizarea microbiologică a fosforului organic	156
Cap.XII.	Fixarea azotului molecular de către microorganisme	158
	Fixarea azotului molecular de către bacterii libere din sol	159
	Chimismul fixării azotului atmosferic de către genul Azotobacter	164
	Răspîndirea Azotobacterului în natură	168
	Fixarea azotului molecular de către genul Clostridium	169
	Alte bacterii nesimbiotice fixatoare de azot molecular	171
	Fixarea azotului molecular de către ciuperci	172
	Fixarea azotului molecular de către alge	173
	Fixarea azotului molecular de către microorganisme simbiotice	174
	Morfologia şi fiziologia bacteriilor de nodozităţi	175
	Specificitatea faţă de gazdă şi sistematica genului Rhizobium	178
	Chimismul fixării azotului molecular de către bacteriile de nodozităţi	179
	Alte plante care formează nodozităţi	181
	Ciclul biologic al azotului	182
Cap.XIII.	Complexul organic al solului (humusul)	184
	Formarea humusului în sol	184
	Compoziţia şi proprietăţile humusului	186
	Factori care influenţează formarea humusului. Proprietăţile humusului	189
	Rolul humusului în sol	191
	Mineralizarea humusului	192
Cap.XIV.	Interrelaţii între plante superioare şi microorganisme	194
	Micoriza	194
	Ciupercile producătoare de micoriză	199
	Interrelaţiile dintre micoriză şi plantele micotrofe	199
	Nutriţia bacteriotrofă a leguminoaselor	201
	Structura nodozităţii mature	203
	Caracterul interrelaţiilor dintre plantele superioare şi bacteriile de nodozităţi	204
	Eficienţa biologică a nodozităţilor	205
	Rizosfera	207
	Importanţa agricolă a risosferei	209

Pag.

Cap.XV. Preparate microbiologice pentru fertilizarea solurilor..... 213

Nitraginul..... 214
Azotobacterinul..... 215
Fosforobacterinul..... 215
Silicobacterinul..... 216
Complexul bacterian M.A.B..... 217
Alte preparate cu microorganisme..... 218
Condiţiile de folosire şi eficienţa preparatelor bacteriene..... 218

B i b l i o g r a f i e..... 221

- - - - - -

Redactor Responsabil: D.Costache
Tehnoredactor: T.Bălăiţă

Dat la cules 12.07.1966 . Bun de tipar 28.09.1966. Apărut 1966. Tiraj 1400+130 1/2 pînză.Hîrtie rotaprint de 63 g/m^2, 8/61x86. Coli editoriale 14,130. Coli de tipar 28,50. A 10343. C.Z. pentru bibliotecile mari 576.8:631,4(075.8). C.Z.pentru bibliotecile mici 57.

Intreprinderea Poligrafică "Grafica Nouă" - U. II
Str.Alexandru Odobescu nr.12
Cda nr.9558/1966.

E R A T A

Pag.	Rîndul	In loc de:	Se va citi:
[illegible]	5 de sus	1% alcool) se dezvoltă intens	1% alcool). Monilina murmanica (drojdia nutritivă) se dezvoltă
66	11 de jos	simetrie bilaterală	simetrie radiară
99	ecuaţia de sus	$CH_3CHO-H_2O \rightarrow CH_2-C\begin{matrix}H\\OH\\OH\end{matrix}$	$CH_3CH+H_2O \rightarrow CH_3-C\begin{matrix}H\\OH\\OH\end{matrix}$
102	ecuaţia a patra de sus	$2\ CH_3CH_2-COOH+2H_2O \rightarrow$	$_2CH_3-CH_2-CH_2-COOH+2H_2O \rightarrow$
[illegible]	4 de sus	lignefaciens şi nonlignefaciens	liquefaciens şi non-liquefaciens
116	11 de jos	H_2SO_4	H_3PO_4
118	11 de jos	Gram pozitiv	Gram negativ
143	formula de sus	$5\ Na_2SO_2O_3$ +	$5\ Na_2S_2O_3$ +
143	formula a doua de sus	+2a CO_3	+2 $CaCO_3$
149	formula de sus	$6\ CO_2+6H_2O$ + aprox.	$6CO_2+6H_2O+2N_2$ + aprox.
153	fig.9o	bacterii aducătoare	bacterii reducătoare
182	fig.96 partea de jos	nitrare-nitraţi-nitrare bacterii specifice bacterii specifice	nitratare-nitriţi-nitritare bacterii specifice bacterii specifice
2o2	16 de jos	membrele	membranele

Cda 9558/966

EDITURA DIDACTICĂ ŞI PEDAGOGICĂ
BUCUREŞTI — 1966

Scanned with OKEN Scanner